

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI EKSTRAK ETANOL BATANG LENGLENGAN (*Leucas lavandulifolia* Sm.) DENGAN METODE DPPH

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOLIC STEM EXTRACT FRACTIONS of *Leucas lavandulifolia* Sm. USING THE DPPH METHOD

Maria Mi Seda^{1*}, Mamik Ponco Rahayu¹, Dwi Ningsih¹

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

*Korespondensi: sedam8610@gmail.com

Submitted : July 22, 2026

Revised : July 25, 2026

Accepted : August 12, 2026

ABSTRAK

Stres oksidatif akibat ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan berperan dalam perkembangan penyakit degeneratif. Batang lenggengan (*Leucas lavandulifolia* Sm.) berpotensi menjadi sumber senyawa antioksidan, namun informasi mengenai kandungan fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidannya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar fenolik total, kadar flavonoid total, serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, serta air dari batang lenggengan.

Penelitian ini menggunakan rancangan *posttest-only control group design*. Batang lenggengan diekstraksi dengan maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian diekstraksi bertingkat menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Aktivitas antioksidan dievaluasi menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai IC_{50} , sedangkan kadar fenolik total dan flavonoid total dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji One Way ANOVA, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dan uji korelasi Pearson pada taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut sebesar $34,43 \pm 0,27$ ppm; $188,61 \pm 0,06$ ppm; $31,25 \pm 0,24$ ppm; dan $169,80 \pm 0,52$ ppm. Kadar fenolik total masing-masing sebesar $85,38 \pm 0,26$; $36,88 \pm 0,36$; $119,82 \pm 0,44$; dan $46,10 \pm 0,36$ mg GAE/g, sedangkan kadar flavonoid total berturut-turut sebesar $54,00 \pm 0,51$; $22,17 \pm 0,32$; $76,43 \pm 0,50$; dan $29,39 \pm 0,38$ mg QE/g. Analisis korelasi memperlihatkan bahwa kadar fenolik total maupun flavonoid total berkorelasi signifikan terhadap aktivitas antioksidan ($p < 0,05$). Disimpulkan, bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan aktivitas antioksidan paling tinggi sekaligus mengandung fenolik dan flavonoid total terbesar dibandingkan fraksi lainnya.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, batang lenggengan, DPPH, flavonoid total, fenolik total.

ABSTRACT

Oxidative stress due to an imbalance of free radicals and antioxidants plays a role in the development of degenerative diseases. Lenggeng stem (*Leucas lavandulifolia* Sm.) has the potential to be a source of antioxidant compounds, but information on its phenolic content, flavonoids, and antioxidant activity is still limited. This study aims to determine the total phenolic levels, total flavonoid levels, and antioxidant activity of ethanol extract and *n*-hexane, ethyl acetate, and water fractions from the lenggeng stem.

This study used a *posttest-only control group design*. The armarm stems were extracted by maceration using 96% ethanol, then extracted in stages using *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH method based on the IC_{50} value, while total phenolic and total flavonoid levels were analyzed using UV-Vis spectrophotometry. Data were statistically analyzed using the One Way ANOVA test, followed by the Tukey HSD test and the Pearson correlation test at a 95% confidence level.

The results showed that all samples had antioxidant activity with an IC_{50} value of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of 34.00 respectively. 43 ± 0.27 ppm; 188.61 ± 0.06 ppm; 31.25 ± 0.24 ppm; and 169.80 ± 0.52 ppm. The total phenolic levels were 85.38 ± 0.26 , respectively; 36.88 ± 0.36 ; 119.82 ± 0.44 ; and 46.10 ± 0.36 mg GAE/g, while the total flavonoid levels were 54.00 ± 0.51 ; 22.17 ± 0.32 ; 76.43 ± 0.50 ; and 29.39 ± 0.38 mg QE/g. Correlation analysis showed that total phenolic and total flavonoid levels were significantly correlated with antioxidant activity ($p < 0.05$). It was concluded that the ethyl acetate

fraction was the fraction with the highest antioxidant activity and contained the largest total phenolics and flavonoids compared to other fractions.

Keywords: antioxidant activity, DPPH, *Leucas lavandulifolia* stem, total flavonoid content, total phenolic content.

PENDAHULUAN

Ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga sangat reaktif dan mampu mengoksidasi berbagai komponen sel. Kondisi tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain pola hidup yang kurang sehat, konsumsi pangan olahan, serta meningkatnya paparan polutan seiring perkembangan teknologi dan transportasi. Apabila jumlah radikal bebas melebihi kapasitas sistem antioksidan endogen, kerusakan biomolekul dapat terjadi dan berkontribusi terhadap proses penuaan maupun perkembangan berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu, keberadaan antioksidan diperlukan untuk menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga menjadi lebih stabil (Saputri dkk., 2020).

Saat ini, antioksidan yang berasal dari bahan alam semakin banyak dikembangkan karena dinilai memiliki tingkat keamanan yang lebih baik dibandingkan antioksidan sintesis yang berpotensi menimbulkan efek samping apabila digunakan secara berlebihan (Kurniawati dan Sutoyo, 2021; Kiromah dkk., 2021). Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami adalah lenggeng (*Leucas lavandulifolia* Sm.) dari famili Lamiaceae. Tanaman ini telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk membantu mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti diabetes, demam, batuk, inflamasi, luka, dan gangguan saluran pencernaan. Selain penggunaan secara empiris, berbagai penelitian juga melaporkan aktivitas biologis tanaman ini, di antaranya sebagai antiinflamasi, antipiretik, antidiare, penyembuh luka, dan relaksan otot (Makhija dkk., 2011; Gupta dkk., 2012; Chandrashekar dan Satyanadaya, 2013). Potensi farmakologis ini diduga berkaitan dengan kandungan metabolit sekundernya. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa lenggeng mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang diketahui berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan (Ximenis dkk., 2022).

Fenolik dan flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang banyak dilaporkan memiliki kemampuan sebagai antioksidan alami. Aktivitas tersebut berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron maupun atom hidrogen sehingga radikal bebas dapat dinetralkan. Oleh sebab itu, kadar fenolik total dan kadar flavonoid total sering digunakan sebagai parameter untuk menggambarkan potensi antioksidan suatu bahan alam. Beberapa penelitian melaporkan bahwa fraksi yang mengandung fenolik dan flavonoid dalam jumlah lebih tinggi umumnya menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik, yang ditandai dengan nilai IC_{50} lebih rendah pada pengujian menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Furi dkk., 2020; Apridamayanti dan Normagiat, 2021; Rizki dkk., 2022).

Penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan menggunakan etanol 96% karena pelarut tersebut mampu melarutkan senyawa polar hingga semipolar, termasuk fenolik dan flavonoid. Ekstrak yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan air untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Tahapan fraksinasi diharapkan menghasilkan fraksi dengan komposisi metabolit sekunder yang berbeda sehingga memungkinkan diperolehnya fraksi yang paling kaya senyawa bioaktif dan memiliki aktivitas antioksidan terbaik (Septyaningsih, 2010; Taufiq dkk., 2017). Penelitian Fachriyah dkk. (2024) menunjukkan bahwa fraksinasi ekstrak etanol menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda menghasilkan variasi kadar fenolik total, kadar flavonoid total, serta aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi. Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini dievaluasi menggunakan metode DPPH karena prosedurnya relatif sederhana, sensitif, cepat, dan banyak digunakan untuk mengukur kemampuan penangkapan radikal bebas pada ekstrak tumbuhan (Karadag dkk., 2009).

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan lenggeng hingga saat ini lebih banyak dilakukan pada bagian bunga. Sakthidhasan dkk. (2022) melaporkan bahwa fraksi etil asetat bunga lenggeng memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sedangkan Salmataj dan Kamath (2020) juga melaporkan potensi antioksidan yang tinggi dari tanaman tersebut. Sebaliknya, informasi mengenai batang lenggeng khususnya yang mengkaji kadar fenolik total, kadar flavonoid total, serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol beserta fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air, masih terbatas. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar fenolik total, kadar flavonoid total, serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan berbagai fraksi batang lenggeng menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai

fraksi yang memiliki potensi antioksidan paling baik sehingga dapat menjadi dasar pengembangan pemanfaatan batang lenggengan sebagai sumber antioksidan alami

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *posttest-only control design*. Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan serta kadar fenolik total dan flavonoid total pada ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari batang lenggengan.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu timbangan analitik (Ohaus), oven (Mettler), blender (Miyako), ayakan 60 mesh (Retsch), bejana maserasi (Pyrex), corong pisah (Iwaki), *rotary evaporator* (Büchi), *water bath* (Mettler), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), desikator (Duran), tabung reaksi (Pyrex), labu ukur (Iwaki), gelas beker (Pyrex), gelas ukur (Iwaki), pipet volume (Duran), pipet tetes (Iwaki), kuvet (Shimadzu), vial (Duran), batang pengaduk (Pyrex), corong Büchner (Pyrex), kertas saring (Whatman), cawan porselen (Haldenwanger).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas batang lenggengan yang diperoleh dari Kecamatan Wulanggintang, Kabupaten Flores Timur, Nusa Tenggara Timur. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96% (Merck), *n*-heksana (Merck), etil asetat (Merck), akuades, metanol *pro analysis* (Merck), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich), reagen Folin–Ciocalteu (Merck), asam galat (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), aluminium klorida (AlCl_3) 10% (Merck), natrium asetat 1 M (Merck), natrium hidroksida (NaOH) 1% (Merck), FeCl_3 (Merck), HCl pekat (Merck), serta pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat (Brataco).

Preparasi Sampel Batang Lenggengan

Batang lenggengan dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil. Sampel selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu $\pm 60^\circ\text{C}$ hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian digunakan untuk pengujian susut pengeringan menggunakan metode gravimetri.

Pembuatan Ekstrak Batang Lenggengan

Ekstrak batang lenggengan diperoleh melalui metode maserasi yang dimodifikasi dengan remaserasi. Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 selama 24 jam. Proses maserasi diawali dengan pengadukan sesekali selama 6 jam, kemudian campuran didiamkan selama 18 jam (Kemenkes RI, 2022). Setelah proses ekstraksi selesai, maserat dipisahkan melalui penyaringan. Ampas simplisia selanjutnya diekstraksi kembali menggunakan etanol 96% sebanyak setengah dari volume pelarut awal. Seluruh maserat digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan bobot ekstrak terhadap bobot simplisia awal (Kemenkes RI, 2022).

Pembuatan Fraksinasi Ekstrak Batang Lenggengan

Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair–cair. Sebanyak 10 g ekstrak pada setiap proses fraksinasi dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% dan 75 mL akuades, kemudian dipartisi secara bertingkat menggunakan *n*-heksana dan etil asetat dengan corong pisah. Proses fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali, sehingga total ekstrak yang digunakan sebanyak 30 g. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang diperoleh dari setiap proses kemudian dikumpulkan sesuai jenis fraksinya dan diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh fraksi kental (Faidah dkk., 2024).

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid

Sebanyak 40 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat. Terbentuknya warna merah, jingga, atau kuning menunjukkan hasil positif adanya senyawa flavonoid (Misfadhila dkk., 2019).

Uji fenolik

Sebanyak 40 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dua tetes larutan FeCl_3 1%. Perubahan warna menjadi biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenolik (Misfadhila dkk., 2019).

Uji saponin

Sebanyak 40 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dikocok selama 1 menit dan ditambahkan dua tetes HCl 1 N. Terbentuknya busa yang stabil selama ± 7 menit menunjukkan hasil positif adanya senyawa saponin (Misfadhila dkk., 2019).

Uji tanin

Sebanyak 40 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2–3 tetes larutan FeCl_3 . Terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Misfadhila dkk., 2019).

Uji alkaloid

Sebanyak 40 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan masing-masing dua tetes pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat. Hasil positif alkaloid ditunjukkan oleh terbentuknya endapan merah bata pada pereaksi Dragendorff, endapan putih atau kuning pada pereaksi Mayer, serta endapan cokelat kehitaman pada pereaksi Bouchardat. Keberadaan alkaloid dinyatakan positif apabila sedikitnya dua pereaksi menghasilkan endapan (Misfadhila dkk., 2019).

Uji steroid dan terpenoid

Sebanyak 40 mg sampel ditambahkan 10 tetes asam asetat glasial (CH_3COOH) dan dua tetes H_2SO_4 , kemudian dikocok perlahan dan didiamkan selama beberapa menit. Munculnya warna biru atau hijau menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan warna merah atau ungu mengindikasikan adanya senyawa triterpenoid (Misfadhila dkk., 2019).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,4 mM

Larutan stok DPPH 0,4 mM disiapkan dengan melarutkan 0,0158 g serbuk DPPH ke dalam metanol p.a menggunakan labu ukur 100 mL hingga mencapai tanda batas, kemudian dihomogenkan (Amalia dkk., 2023).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dipindahkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas. Larutan yang telah homogen diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang maksimum (Amalia dkk., 2023).

Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dengan 4 mL metanol p.a. Campuran kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama *operating time* yang telah ditentukan. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum sebanyak tiga kali replikasi (Amalia dkk., 2023).

Pembuatan Larutan Baku Kuersetin Sebagai Kontrol Positif

Larutan induk kuersetin 100 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg kuersetin dalam metanol p.a menggunakan labu ukur 100 mL hingga volume tercapai. Larutan tersebut kemudian diencerkan menjadi 20 ppm dan selanjutnya disiapkan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm menggunakan metanol p.a (Amalia dkk., 2023).

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Larutan stok sampel dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak atau fraksi ke dalam metanol p.a menggunakan labu ukur 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan menjadi 500 ppm dan digunakan untuk membuat lima seri konsentrasi yang menghasilkan nilai absorbansi pada kisaran 0,2–0,8 setelah direaksikan dengan larutan DPPH (Amalia dkk., 2023).

Penentuan Operating Time

Operating time ditentukan menggunakan seri konsentrasi terendah dari masing-masing sampel. Sebanyak 1 mL larutan uji dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan 3 mL metanol p.a, kemudian dihomogenkan. Absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang maksimum setiap menit selama 60 menit untuk memperoleh waktu reaksi yang stabil (Nugroho, 2017).

Penentuan Potensi Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan lima seri konsentrasi dari masing-masing sampel. Sebanyak 1 mL larutan uji direaksikan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan 3 mL metanol p.a, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi sesuai *operating time*. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Seluruh pengujian dilakukan dalam tiga kali replikasi, sedangkan larutan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dengan prosedur yang sama (Faidah dkk., 2024).

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Larutan baku asam galat 400 ppm disiapkan dengan melarutkan 10 mg asam galat ke dalam metanol p.a menggunakan labu ukur 25 mL hingga mencapai tanda batas. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm (Faidah dkk., 2024).

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Sebanyak 1 mL larutan asam galat 60 ppm direaksikan dengan 5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5% dan didiamkan selama 8 menit pada suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan 4 mL NaOH 1%, kemudian campuran dihomogenkan dan absorbansinya diukur pada rentang panjang gelombang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang maksimum (Faidah dkk., 2024).

Penentuan Operating Time

Larutan baku asam galat 60 ppm sebanyak 1 mL dicampurkan dengan 5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5% dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu ditambahkan 4 mL NaOH 1%, dihomogenkan, kemudian absorbansi diukur setiap satu menit pada panjang gelombang maksimum hingga diperoleh nilai serapan yang stabil sebagai operating time (Faidah dkk., 2024).

Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Masing-masing larutan baku asam galat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm sebanyak 1 mL direaksikan dengan 5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5% dan didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 mL NaOH 1%, dihomogenkan, kemudian diinkubasi sesuai operating time. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva baku berdasarkan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi (Faidah dkk., 2024).

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Sebanyak 200 mg ekstrak atau fraksi dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 25 mL. Sebanyak 1 mL larutan sampel direaksikan dengan 5 mL reagen Folin–Ciocalteu 7,5% dan didiamkan selama 8 menit pada suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan 4 mL NaOH 1%, dihomogenkan, kemudian diinkubasi sesuai operating time. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum dengan tiga replikasi. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku asam galat dan dinyatakan sebagai mg GAE/g ekstrak atau fraksi (Faidah dkk., 2024).

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Larutan baku kuersetin 400 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg kuersetin ke dalam metanol p.a menggunakan labu ukur 25 mL hingga mencapai tanda batas. Larutan induk tersebut kemudian diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm menggunakan metanol p.a (Faidah dkk., 2024).

Penetapan panjang gelombang maksimum kuersetin

Sebanyak 1 mL larutan kuersetin 60 ppm direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan $AlCl_3$ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Campuran dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 400–500 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang maksimum (Faidah dkk., 2024).

Penentuan Operating Time

Sebanyak 1 mL larutan baku kuersetin 60 ppm dicampurkan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan $AlCl_3$ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Campuran dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 30 menit. Absorbansi diukur setiap satu menit selama 60 menit pada panjang gelombang maksimum hingga diperoleh nilai serapan yang stabil sebagai operating time (Faidah dkk., 2024).

Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Masing-masing larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm sebanyak 1 mL direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan $AlCl_3$ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Campuran dihomogenkan, kemudian diinkubasi sesuai operating time. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum dan digunakan untuk menyusun kurva baku kuersetin (Faidah dkk., 2024).

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Batang Lenglengan

Sebanyak 200 mg ekstrak atau fraksi dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 25 mL. Sebanyak 1 mL larutan sampel direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan $AlCl_3$ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Campuran dihomogenkan, kemudian diinkubasi sesuai operating time. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum dengan tiga replikasi. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan persamaan regresi linier dari kurva baku kuersetin dan dinyatakan sebagai mg QE/g ekstrak atau fraksi (Faidah dkk., 2024).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Batang lengglengan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kecamatan Wulanggitan, Kabupaten Flores Timur, Nusa Tenggara Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan teridentifikasi sebagai lengglengan sehingga memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai bahan penelitian. Batang lengglengan segar dicuci, dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh simplisia kering. Sebanyak 6.000 g batang lengglengan segar menghasilkan 2.000 g simplisia dengan rendemen sebesar 33,33%. Simplisia kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh 521 g serbuk simplisia dengan rendemen sebesar 26,05%.

Sebelum proses ekstraksi dilakukan, serbuk simplisia terlebih dahulu diuji susut pengeringannya menggunakan metode gravimetri untuk mengetahui jumlah komponen yang hilang selama pemanasan, termasuk kadar air dan senyawa volatil. Hasil pengujian menunjukkan nilai susut pengeringan sebesar $8,54 \pm 0,11\%$, sehingga telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu tidak melebihi 10%. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa simplisia memiliki kandungan air yang relatif rendah sehingga lebih stabil selama penyimpanan serta dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang berpotensi menurunkan mutu simplisia.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pemilihan metode ini didasarkan pada kemampuannya mengekstraksi berbagai metabolit sekunder tanpa melibatkan pemanasan, sehingga senyawa yang bersifat termolabil tetap terjaga. Selain itu, etanol 96% mampu melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang cukup luas, terutama senyawa fenolik dan flavonoid. Sebanyak 500 g serbuk simplisia menghasilkan 91 g ekstrak kental dengan rendemen sebesar 18,2%. Besarnya rendemen dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jenis pelarut, metode ekstraksi, ukuran partikel simplisia, serta kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam bahan tanaman (Rizki dkk., 2024).

Ekstrak etanol selanjutnya dipisahkan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Sebanyak 30 g ekstrak difraksinasi dalam tiga *batch*, masing-masing menggunakan 10 g ekstrak. Hasil fraksinasi menunjukkan rendemen fraksi *n*-heksana sebesar 24%, fraksi etil asetat sebesar 18%, dan fraksi air sebesar 43%. Rendemen fraksi air yang paling tinggi menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa penyusun ekstrak batang lengglengan bersifat polar sehingga lebih banyak terdistribusi ke dalam pelarut air dibandingkan pelarut lainnya.

Identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak etanol dan masing-masing fraksi dilakukan secara kualitatif menggunakan uji reaksi warna. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada setiap sampel sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, dan kadar flavonoid total. Hasil skrining fitokimia disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Kimia Pada Ekstrak Dan Fraksi Batang Lengglengan

Metabolit	Ekstrak	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Alkaloid	+	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	+
Tannin	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	-

Keterangan : (+) = Positif; (-) = Negatif

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada tabel 1, ekstrak etanol batang lengglengan mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, serta steroid/triterpenoid. Fraksi *n*-heksana mengandung flavonoid, fenolik, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid, sedangkan alkaloid tidak terdeteksi pada fraksi tersebut. Fraksi etil asetat menunjukkan adanya flavonoid, fenolik, tanin, serta triterpenoid, sementara fraksi air mengandung flavonoid, fenolik, saponin, dan tanin. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Ximenis dkk. (2022) yang melaporkan bahwa lengglengan mengandung senyawa fenolik, saponin, alkaloid, dan tanin. Adanya kesamaan hasil tersebut menunjukkan bahwa batang lengglengan memiliki kandungan metabolit sekunder yang beragam, meskipun terdapat perbedaan pada bagian tanaman, metode ekstraksi, dan kondisi penelitian yang dapat memengaruhi hasil skrining fitokimia.

Keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid pada seluruh sampel menunjukkan bahwa ekstrak etanol maupun fraksi batang lengglengan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Kedua golongan senyawa tersebut diketahui mampu mendonorkan atom hidrogen maupun elektron untuk menstabilkan radikal bebas sehingga dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi berantai (Kurniawati dan Sutoyo, 2021).

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi batang lenglengan ditentukan menggunakan metode DPPH dengan parameter nilai IC_{50} . Pengujian dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dan masing-masing fraksi dalam menangkap radikal bebas DPPH. Hasil pengujian aktivitas antioksidan disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan IC_{50} (ppm)

Sampel	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata	Kategori
Kuersetin	6,1658	6,1943	6,2493	$6,20 \pm 0,04$	Sangat kuat
Ekstrak	34,2240	34,3275	34,7495	$34,43 \pm 0,27$	Sangat kuat
Fraksi <i>n</i> -heksana	188,5536	188,6763	188,6287	$188,61 \pm 0,06$	Lemah
Fraksi etil asetat	31,4500	30,9745	31,3423	$31,25 \pm 0,24$	Sangat kuat
Fraksi air	170,2381	169,2269	169,9648	$169,80 \pm 0,52$	Lemah

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 2, kuersetin sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar $6,20 \pm 0,04$ ppm dan termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Di antara sampel yang diuji, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $31,25 \pm 0,24$ ppm, diikuti ekstrak etanol sebesar $34,43 \pm 0,27$ ppm. Sementara itu, fraksi air dan fraksi *n*-heksana masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar $169,80 \pm 0,52$ ppm dan $188,61 \pm 0,06$ ppm, sehingga keduanya termasuk kategori antioksidan lemah. Nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan kemampuan masing-masing sampel dalam meredam radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin sedikit konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal DPPH, sehingga aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Perbedaan aktivitas antioksidan tersebut berkaitan dengan jenis senyawa yang terdistribusi pada masing-masing fraksi selama proses fraksinasi. Fraksi etil asetat sebagai pelarut semipolar cenderung mengakumulasi senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki kemampuan mendonorkan atom hidrogen maupun elektron untuk menstabilkan radikal bebas DPPH. Sebaliknya, fraksi *n*-heksana lebih banyak melarutkan senyawa nonpolar yang umumnya memiliki kontribusi lebih kecil terhadap aktivitas antioksidan.

Hasil skrining fitokimia mendukung temuan tersebut, di mana fraksi etil asetat teridentifikasi mengandung flavonoid, fenolik, tanin, serta steroid/triterpenoid. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut diduga berkontribusi secara sinergis terhadap kemampuan menangkap radikal bebas. Tanin dan senyawa fenolik diketahui memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan atom hidrogen, sedangkan flavonoid berperan sebagai donor elektron sehingga mampu menghentikan reaksi oksidasi berantai (Kurniawati dan Sutoyo, 2021).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol sedikit lebih rendah dibandingkan fraksi etil asetat. Kondisi ini diduga karena ekstrak etanol masih mengandung campuran berbagai metabolit sekunder dengan tingkat kepolaran yang beragam, sehingga senyawa yang bersifat antioksidan belum terkonsentrasi secara optimal. Melalui proses fraksinasi, senyawa bioaktif yang memiliki karakter semipolar lebih banyak terakumulasi pada fraksi etil asetat sehingga aktivitas antioksidannya meningkat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Taatun dkk (2026) dan Doloking dkk (2022) yang melaporkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi *n*-heksana maupun fraksi air. Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan flavonoid murni yang memiliki lima gugus hidroksil aktif. Struktur tersebut memungkinkan kuersetin mendonorkan atom hidrogen maupun elektron secara efektif kepada radikal DPPH sehingga menghasilkan nilai IC_{50} paling rendah dibandingkan seluruh sampel yang diuji (Purnama dkk, 2022).

Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak etanol dan masing-masing fraksi batang lenglengan dilakukan menggunakan metode Folin–Ciocalteu dengan asam galat sebagai larutan standar dan spektrofotometer UV-Vis sebagai instrumen pengukuran. Hasil penetapan kadar fenolik total pada ekstrak etanol dan masing-masing fraksi disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Kadar Fenolik Total (mg GAE/g) Batang Lenglengan

Sampel	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Total kadar ($X \pm SD$)
Ekstrak	85,5930	85,0493	85,0919	$85,24 \pm 0,30$
Fraksi <i>n</i> -heksana	36,3044	36,7316	36,6264	$36,88 \pm 0,36$
Fraksi etil asetat	119,8456	120,2631	119,3689	$119,82 \pm 0,44$
Fraksi air	46,5714	46,0587	46,6786	$46,10 \pm 0,36$

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 3, fraksi etil asetat memiliki kadar fenolik total tertinggi, yaitu sebesar $119,82 \pm 0,44$ mg GAE/g. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol ($85,24 \pm 0,30$ mg

GAE/g), fraksi air ($46,10 \pm 0,36$ mg GAE/g), maupun fraksi *n*-heksana ($36,88 \pm 0,36$ mg GAE/g). Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolik pada batang lenggengan lebih banyak terdistribusi ke dalam pelarut etil asetat yang bersifat semipolar. Sebaliknya, rendahnya kadar fenolik pada fraksi *n*-heksana menunjukkan bahwa pelarut nonpolar kurang efektif dalam mengekstraksi senyawa fenolik yang umumnya bersifat polar hingga semipolar.

Pola kadar fenolik total yang diperoleh selaras dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH. Fraksi etil asetat yang memiliki kadar fenolik tertinggi juga menghasilkan nilai IC_{50} paling rendah, sedangkan fraksi *n*-heksana menunjukkan kadar fenolik terendah disertai nilai IC_{50} paling tinggi. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa peningkatan kadar fenolik total berkaitan dengan meningkatnya kemampuan sampel dalam menangkap radikal bebas. Senyawa fenolik diketahui memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghambat proses oksidasi (Salim dkk., 2020).

Data kadar fenolik total selanjutnya dianalisis menggunakan One Way ANOVA setelah memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan kadar fenolik total yang signifikan antar kelompok sampel ($p < 0,05$). Uji lanjut *Tukey HSD* memperlihatkan bahwa setiap kelompok membentuk kelompok homogen yang berbeda, sehingga kadar fenolik total ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berbeda secara signifikan satu sama lain. Temuan ini menunjukkan bahwa proses fraksinasi berperan dalam memisahkan senyawa fenolik berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol dan fraksi batang lenggengan dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$ dan kuersetin sebagai baku pembanding. Hasil penetapan kadar flavonoid total dinyatakan dalam mg QE/g dan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)

	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Total kadar ($\bar{X} \pm SD$)
Ekstrak	54,5660	53,9177	53,5439	$54,00 \pm 0,51$
Fraksi <i>n</i> -heksana	22,1102	22,5371	21,8924	$22,17 \pm 0,32$
Fraksi etil asetat	76,7535	76,6949	75,8475	$76,43 \pm 0,50$
Fraksi air	29,0104	29,3870	29,7793	$29,39 \pm 0,38$

Berdasarkan hasil pengujian, fraksi etil asetat menghasilkan kadar flavonoid total tertinggi, yaitu sebesar $76,43 \pm 0,50$ mg QE/g. Nilai tersebut diikuti oleh ekstrak etanol sebesar $54,00 \pm 0,51$ mg QE/g, fraksi air sebesar $29,39 \pm 0,38$ mg QE/g, dan fraksi *n*-heksana sebesar $22,17 \pm 0,32$ mg QE/g. Distribusi tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa flavonoid pada batang lenggengan memiliki sifat polar hingga semipolar, sehingga lebih mudah terpartisi ke dalam pelarut etil asetat dibandingkan *n*-heksana yang bersifat nonpolar.

Hasil penetapan kadar flavonoid total menunjukkan kecenderungan yang sama dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan. Fraksi etil asetat yang memiliki kadar flavonoid tertinggi juga memberikan nilai IC_{50} paling rendah, sedangkan fraksi *n*-heksana menunjukkan kadar flavonoid paling rendah dengan nilai IC_{50} tertinggi. Hubungan tersebut mengindikasikan bahwa flavonoid berperan penting dalam aktivitas antioksidan melalui kemampuannya mendonorkan atom hidrogen maupun elektron untuk menstabilkan radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi (Salim dkk., 2020).

Analisis statistik dilakukan menggunakan One Way ANOVA setelah data memenuhi asumsi normalitas berdasarkan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitas varians berdasarkan uji *Levene* ($p > 0,05$). Hasil One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan kadar flavonoid total yang signifikan antar kelompok sampel ($p < 0,05$). Uji lanjut *Tukey HSD* menunjukkan bahwa setiap kelompok memiliki rata-rata kadar flavonoid total yang berbeda secara signifikan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa proses fraksinasi menghasilkan perbedaan distribusi senyawa flavonoid pada masing-masing fraksi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. Hasil ini sejalan dengan penelitian Faidah dkk. (2024) yang menunjukkan adanya perbedaan kadar flavonoid total pada fraksi dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda.

Analisis Korelasi Data

Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, dan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air batang lenggengan. Hubungan antarvariabel dianalisis menggunakan uji korelasi Pearson pada taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis korelasi aktivitas antioksidan, kadar fenolik total, dan kadar flavonoid total disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Data Korelasi Aktivitas Antioksidan, Fenolik Total Dan Flavonoid Total

Sampel	Aktivitas antioksidan IC ₅₀ (ppm)	Fenolik total (mgGAE/ g)	Flavonoid total (mg QE/ g)
Ekstrak	34,4337 ± 0,27 ^{ab}	85,3874 ± 0,26 ^a	54,0092 ± 0,51 ^b
Fraksi <i>n</i> -heksana	188,6195 ± 0,06 ^{ab}	36,8875 ± 0,36 ^a	22,1799 ± 0,32 ^b
Fraksi etil asetat	31,2556 ± 0,24 ^{ab}	119,8259 ± 0,44 ^a	76,4320 ± 0,50 ^b
Fraksi air	169,8099 ± 0,52 ^{ab}	46,1029 ± 0,36 ^a	29,3923 ± 0,38 ^b

Keterangan: ^a = berkorelasi signifikan dengan kadar fenolik total ($r = -0,936$; $p < 0,05$); ^b = berkorelasi signifikan dengan kadar flavonoid total ($r = -0,882$; $p < 0,05$).

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar fenolik total dan kadar flavonoid total memiliki hubungan yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan ($p < 0,05$). Korelasi yang diperoleh bersifat negatif, yang menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar fenolik maupun flavonoid total, semakin rendah nilai IC_{50} yang dihasilkan. Dengan demikian, peningkatan kandungan kedua golongan senyawa tersebut diikuti oleh meningkatnya kemampuan ekstrak maupun fraksi dalam meredam radikal bebas. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Puspitasari dkk (2019) yang menunjukkan adanya korelasi sangat kuat antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan dengan nilai korelasi sebesar $-0,942$, serta antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan dengan nilai korelasi sebesar $-0,912$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan fenolik dan flavonoid total, semakin rendah nilai IC_{50} sehingga aktivitas antioksidan semakin kuat.

Selain itu, kadar fenolik total juga menunjukkan hubungan positif dengan kadar flavonoid total. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan batang lenggengan. Meskipun demikian, aktivitas antioksidan yang dihasilkan diduga merupakan hasil kerja sinergis berbagai senyawa metabolit sekunder, termasuk fenolik nonflavonoid, tanin, dan senyawa bioaktif lainnya yang terkandung dalam ekstrak maupun fraksi. Hasil penelitian ini sejalan dengan Puspitasari dkk. (2019) yang melaporkan adanya hubungan antara kandungan fenolik total dan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa fenolik dan flavonoid merupakan kelompok senyawa yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, meskipun aktivitas tersebut tidak hanya dipengaruhi oleh satu golongan senyawa.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan potensi terbaik karena menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi (IC_{50} 31,26 ± 0,24 ppm), disertai kadar fenolik total (119,83 ± 0,44 mg GAE/g) dan kadar flavonoid total (76,43 ± 0,50 mg QE/g).

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, B. R., Muliasari, H., dan 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):69–81.
- Apridamayanti, P., dan Normagiat, S. 2021. Kandungan Fenol, Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Infusa dan Freeze-dried Infusa Tanaman *Plocoglottis lowii* Rchb.f. *pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*. 18(1): 122–129.
- Chandrashekar, K. S., dan Satyanarayana, D. 2013. Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Petroleum Ether Extract from *Leucas lavandulaefolia* Rees in Albino Rats. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 1(7): 562–566.
- Doloking, H., Ningsi, S., dan Tahar, N. 2022. Flavonoids : A Review on Extraction, Identification, Quantification, and Antioxidant Activity. 5(1).
- Fachriyah, E., Wati, M. R., Ismiyarto, I., dan Sarjono, P. R. 2024. Penentuan Total Fenolik dan Flavonoid serta Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Mangga Kultivar Madu. *Jurnal Penelitian Saintek*. 29(2):87–96. <https://doi.org/10.21831/jps.v1i2.77028>
- Faidah, N., Febrina, D., Prabandari, R., dan Silvia, A. 2024. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, *n*-Heksan Dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Biji Jagung Ungu (*Zea mays* var Ceratina Kulesh). *Jurnal Ilmiah Farmasi Terapan & Kesehatan*. 2(1): 28–43.
- Furi, M., Al Basit, N., Ikhtiarudin, I., dan Utami, R. 2020. Penentuan Total Fenolik, Flavonoid, dan Uji Aktivitas Antioksidan. *JFIOOnline*. 12(1):48–59.
- Gupta, J. K., Agrawal, K. K., Verma, A., dan Singh, K. 2012. Investigation of *In Vitro* Anthelmintic Activity of *Leucas lavandulifolia*, *Leucas cephalotes* and *Leucas aspera*. *Journal of Pharmacy Research*. 5(1): 212.

- Karadag, A., Ozcelik, B., dan Saner, S. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*.2(1):41–60.
- Kementerian Kesehatan RI. 2022. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kiromah, N. Z. W., Husein, S., dan Rahayu, T. P. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus* Roxb.) dengan Metode DPPH (2,2Difenil-1-Pikrilhidrazil).*Pharmacon Jurnal Farmasi Indonesia*.18(1): 60–67.
- Kurniawati, I. F., dan Sutoyo, S. 2021. Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis* [Park.I] Fosberg) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(1): 1–11.
- Makhija, L. K., K. S. Chandrashekar, L. Richard, dan G. Jaykumar. 2011. Phytochemical and Pharmacological Profile of *Leucas lavandulifolia* : a Review. *Research Journal Medicinal Plant*. 5(5): 500-507.
- Misfadhila, S., Azizah, Z., dan Maisarah, L. 2019. Penggunaan Metode DPPH dalam Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex F. A. Zorn) Fosberg). *Jurnal Farmasi Higea*.11(1): 75–82
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar Teknologi Bahan Alami*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., dan Faizah, N. G. A. 2019. Aktivitas antioksidan, penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.). *Jurnal Ilmiah Teknosains*. 5(1):1–8. <https://doi.org/10.26877/jitek.v5i1.3490>.
- Purnama, S., Ramadhan, H., dan Sayakti, P. I. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi *N*-Heksan dari Ekstrak Metanol Daun Binjai (*Mangifera caesia* Jack. ex. Wall) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 20(1): 55–62. <https://doi.org/10.35814/jifi.v20i1.1133>
- Rizki, M. I., Sari, A. K., Kartika, D., Khairunnisa, A., dan Normaidah. 2022. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) dengan Metode DPPH. *Media Pharmaceutica Indonesiana*. 4(2):168–178.
- Sakthidhasan, P., Banupriya, J., Rajesh, R., Viswanathan, M.B.G., 2022. GC-MS, antibacterial and antioxidant potential of *Leucas lavandulifolia* Sm. *International Journal of Botany Studies*.7(1):264-269
- Salmataj dan Kamath, S., 2020. *Leucas Lavundulifolia* Ameliorates Experimentally Induced Sodium Arsenate Toxicity In Intestinal Epithelial Cells Through Abrogation Of Oxidative Stress. *Poll Res*. 39(4):1292-1296
- Salim, S. A., Saputri, F. A., Saptarini, N. M., dan Levita, J. 2020. Kelebihan dan Keterbatasan Pereaksi Folin-Ciocalteu dalam Penentuan Kadar Fenol Total pada Tanaman. *Jurnal Farmaka*. 18(1): 46–57.
- Saputri, P.A.,Augustina, I., dan Fatmaria. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etil benzotiazol)-6-asam sulfat) pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran*. 8(1).
- Septyaningsih, D. 2010. *Isolasi Dan Identifikasi Komponen Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lanik)* Surakarta : FMIPA UNS.
- Taatun, A., Anwar, K., dan Arifin, I. 2026. Aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak etanol daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.) menggunakan metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. 11(1):20–27.
- Taufiq, H., Sumarawati, T., Aini, Q., Rahmawati, R. P., Pawestri, Y. A., dan Qarinah, N. 2017. Potensi Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Tanaman yang Dikenal sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. V(1):1–9.
- Ximenis, V. D., Refli, R., Amalo, D., Dima, A., Mauboy, R., dan Ruma, M. 2022. The Activity of Lenglengan Leaf Extract (*Leucas lavandulifolia* Sm.) as an Antibacterial for *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biologi Tropis*. 22(2): 461–470.