

## Potensi Antioksidan dan Kadar Total Fenolik Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) pada Variasi Pelarut

Maria Ulfah<sup>\*</sup>, Femmy Sethyana, Sofia Ayu Fadila Anam

Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia.

\*e-mail: [mariau\\_astra@yahoo.com](mailto:mariau_astra@yahoo.com)

### Abstrak

Daun pandan wangi mengandung flavonoid, fenolik berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas farmakologi dan kadar senyawa kimia tanaman dipengaruhi oleh pelarut. Penelitian bertujuan untuk mengetahui variasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik, flavonoid ekstrak daun pandan wangi. Daun pandan wangi diekstraksi metode soxhlet dengan etanol 96% dan metanol. Ekstrak diuji antioksidan metode ABTS dengan standar Trolox. Uji kadar total fenolik menggunakan *folin-ciocalteu* standar asam galat dan uji flavonoid menggunakan  $\text{AlCl}_3$  dengan standar kuersetin. Data aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik dan flavonoid dianalisis secara deskriptif. Ekstrak dengan pelarut etanol memiliki  $IC_{50}$   $41,544 \pm 1,415$  ppm,  $IC_{50}$  trolox  $24,565 \pm 1,722$  ppm, kadar total fenolik  $119,324 \pm 5,739$  mgGAE/g dan flavonoid  $5,452 \pm 0,077$  mgQE/g dan ekstrak metanol memiliki  $IC_{50}$   $51,4821 \pm 0,1075$  ppm,  $IC_{50}$  trolox  $19,7011 \pm 0,0399$  ppm dan kadar total fenolik  $98,3684 \pm 1,5789$  mgGAE/g dan flavonoid  $7,7356 \pm 0,2350$  mgQE/g. Ekstrak daun pandan wangi mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan kadar fenolik total terbesar dengan pelarut etanol. Sedangkan kadar flavonoid total terbesar pada ekstrak daun pandan wangi dengan pelarut metanol.

**Kata kunci:** daun pandan wangi, fenolik, flavonoid,  $IC_{50}$ , pelarut

### Abstract

*Pandan wangi leaves contain flavonoids, phenolic potential as antioxidants. Pharmacological activity and levels of plant chemical compounds are affected by the solvent. The aim of this study was to determine the variation of solvents on antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of pandan wangi leaves extract. Pandan wangi leaves were extracted by the soxhlet method with 96% ethanol and methanol. The extract was tested for antioxidants using the ABTS method with the Trolox standard. Test the total phenolic levels using folin ciocalteu with standard gallic acid and flavonoid test using  $\text{AlCl}_3$  with standard quercetin. Data on antioxidant activity and total phenolic and flavonoid levels were analyzed descriptively. Extract with ethanol solvent has  $IC_{50} 41,544 \pm 1,415$  ppm,  $IC_{50}$  trolox  $24.565 \pm 1.722$  ppm, total phenolic content  $119.324 \pm 5.739$  mgGAE/g and flavonoids  $5.452 \pm 0.077$  mgQE/g and methanol extract had  $IC_{50} 51,4821 \pm 0,1075$  ppm,  $IC_{50}$  trolox  $19.7011 \pm 0.0399$  ppm and levels of total phenolics  $98.3684 \pm 1.5789$  mgGAE/g and flavonoids  $7.7356 \pm 0.2350$  mgQE/g. Pandan Wangi leaf extract has a very strong antioxidant activity and the highest total phenolic content with ethanol solvent. While the highest levels of total flavonoids in pandan wangi leaf extract with methanol solvent.*

**Keywords:** pandan wangi leaves, phenolics, flavonoids,  $IC_{50}$ , solvent

## 1. PENDAHULUAN

Radikal bebas di dalam tubuh dapat memicu terjadinya stress oksidatif (Yuslianti, 2018). Stres oksidatif adalah kondisi di mana kadar radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh menjadi tidak seimbang. Dengan demikian berperan dalam patofisiologi proses penuaan dan berbagai penyakit degeneratif (Werdhasari, 2014). Oleh karena itu untuk meredam radikal bebas diperlukan asupan antioksidan (Ramadani, 2010).

Antioksidan diperoleh dari tanaman yang mengandung senyawa flavonoid (Yuslianti, 2018) dan terdapat dalam seluruh bagian tanaman (Neldawati dkk., 2013). Senyawa flavonoid mudah terlarut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, aseton dan lain sebagainya (Hidayat dkk., 2022). Prinsipnya pelarut yang digunakan adalah *like dissolve like yaitu* senyawa kimia akan terlarut sesuai polaritas dari pelarut yang digunakan (Arifianti, 2014).

Menurut penelitian Pamungkas dkk., (2017) menyatakan bahwa, Ekstrak etanol 96% Pandan Wangi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 39.700 ± 1.003 ppm dengan metode DPPH dan menurut penelitian Quyen dkk. (2020) menyatakan bahwa, senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman pandan wangi adalah fenolik total dengan kadar 38,12 ± 1,49 mgGAE/gram dan flavonoid total dengan kadar 11,79 ± 0,44 mgQE/gram serta menurut penelitian Khairina (2021), ekstrak etanol Pandan Wangi 96% memiliki kandungan fenolik sebesar 122,793 ± 2,526 mgGAE/gram dan kandungan flavonoid total sebesar 4,652 ± 0,206 mgQE/gram dan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (C<sub>50</sub> 39.540 ppm). Berdasarkan penelitian Purwati, dkk. (2018) menyatakan bahwa, ekstrak metanol 80% daun pandan wangi yang diekstraksi secara maserasi pada metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan sebesar 64,54%. Metode ekstraksi yang digunakan pada ke-4 penelitian ekstrak pandan wangi tersebut menggunakan

pelarut etanol dan metanol yang diekstraksi dengan metode cara dingin yaitu maserasi. Metode ini untuk mengekstraksi senyawa kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Tujuan penelitian untuk mengetahui potensi antioksidan dari senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam daun pandan wangi yang tahan terhadap pemanasan dengan metode ekstraksi soxhlet menggunakan variasi pelarut etanol dan metanol. Metode soxhlet belum pernah dilakukan. Metode ini dapat menarik senyawa-senyawa kimia dalam tanaman yang tahan terhadap pemanasan seperti flavonoid (Fadlilaturrahmah dkk., 2020). Menurut penelitian Verawati dkk., (2017) menyatakan bahwa, ekstrak metanol daun salam yang diekstraksi dengan beberapa metode diperoleh nilai IC<sub>50</sub> maserasi sebesar 35,057 ppm, soxhlet 49,984 ppm, perkolasii 49,673 ppm. Dari hasil penelitian ini pada ekstraksi menggunakan soxhlet diperoleh nilai IC<sub>50</sub> dengan kategori kuat yaitu dibawah 50 ppm.

Menurut Nurhasnawati, dkk. (2017) menyatakan bahwa, perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi metabolit yang terkandung dalam ekstrak dan aktivitas antioksidannya. Sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa kimia yang tahan terhadap pemanasan dengan metode soxhlet yang berfungsi sebagai antioksidan serta penetapan kadar total fenolik flavonoid ekstrak daun pandan wangi (*pandanus amaryllifolius roxb.*) untuk menjamin mutu khasiat ekstrak sebagai antioksidan dengan metode ABTS. Metode ABTS dapat menentukan aktivitas antioksidan senyawa kimia yang bersifat lipofilik atau hidrofilik, efektif, sederhana dan mudah diulang (Solichah dkk., 2021). Senyawa flavonoid bersifat lipofilik yang dapat mendonorkan elektron pada senyawa radikal menjadi stabil (Hidayat dkk., 2022).

## 2. METODE

### Bahan Penelitian

Bahan penelitian yaitu daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) berwarna hijau segar, etanol 96%, metanol, alumunium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) 10% (Merck), kalium asetat 1M ( $\text{CH}_3\text{COOK}$  1M), kuersetin (Sigma), asam galat (Sigma),  $\text{NaCO}_3$ , *folin-ciocalteu*, dan metanol p.a. (Merck), ABTS (Sigma), kalium persulfate ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) Trolox (Sigma) dan etanol p.a. (Merck).

### Alat Penelitian

Alat penelitian yaitu oven, blender, *moisture balance* (Ohause), timbangan elektrik (Ohaus), *rotary evaporator*, soxhlet (labu alat bulat, tabung soxhlet, kondensor, mantel pemanas batu didih, statif dan klem, corong), *rotary evaporator* (Heidolph), alat gelas laboratorium, *magnetic stirrer*, pipet tetes, kuvet, mikropipet tip (biru dan kuning) dan spektrofotometri UV-Vis.

### Ekstraksi

Pembuatan ekstrak menggunakan metode soxhlet yaitu serbuk simplisia daun pandan wangi ditimbang 250 gram, Kemudian bungkus selongsong dengan kertas saring, ikat kedua ujung kertas saring dengan benang dan masukkan ke dalam ekstraktor soxhlet. Batu didih dimasukkan ke dalam labu destilasi dan dimasukkan pelarut metanol 500 mL, kemudian diekstraksi sehingga diperoleh filtrat cair. Filtrat dibuat ekstrak kental dengan *rotary evaporator* (Purwandari dkk., 2018). Pada pembuatan ekstrak etanol 96% daun pandan wangi menggunakan metode ekstraksi yang sama seperti pembuatan ekstrak metanol daun pandan wangi yaitu soxhlet. Perbedaannya pada pelarut yaitu etanol 96% dan jumlah simplisianya 100 g. Pada proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh sifat pelarut yang akan dipakai. Suatu senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang mempunyai polaritas sama atau mirip (Sudarmadji dkk., 1989).

### Pengujian Antioksidan

#### a. Pembuatan larutan ABTS

Serbuk ABTS (7,4mM) sejumlah 100 mg, dilarutkan aquades 25 mL dan serbuk kalium persulfate (2,46 nM) sebanyak 33 mg dilarutkan aquades 50 mL. Masing - masing larutan ABTS dan larutan kalium persulfate sebanyak 25 mL dicampur dan tempatkan wadah gelap dan ditutup alumunium foil kemudian diinkubasi 12 – 16 jam.

#### b. Pembuatan stok trolox 1.000 ppm

Serbuk trolox sebanyak 10 mg di tempatkan labu ukur 10 mL ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas (Arnao, 2000).

#### c. Pembuatan seri konsentrasi stok trolox

Stok trolox 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm dengan cara dipipet sejumlah 250, 500, 750, 1000, 1250, dan 1500  $\mu\text{L}$  ditempatkan labu takar 5 mL ditambah metanol p.a sampai tanda batas (Arnao, 2000).

#### d. Pembuatan stok sampel 10.000 ppm

Ekstrak kental daun pandan wangi masing – masing ditimbang sebanyak 1 g, larutkan dengan metanol p.a 10 mL, kemudian ditempatkan labu ukur 100 mL ditambah metanol p.a sampai tanda batas (Sami dan Rahimah, 2016).

#### e. Pembuatan seri konsentrasi stok sampel

Stok sampel 10.000 ppm sebanyak 1 mL, ditempatkan labu takar 10 mL ditambah 100 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm dengan cara dipipet 250, 500, 750, 1000, 1250, dan 1500  $\mu\text{L}$  ditempatkan labu takar 5 mL, ditambah metanol p.a. sampai tanda batas (Sami dan Rahimah, 2016).

#### f. Penentuan $\lambda$ maksimum

Stok ABTS sejumlah 1 mL, ditempatkan labu takar 5 mL ditambah metanol p.a sampai tanda batas dan di ukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  600-800 nm (Sami dan Rahimah, 2016).

#### g. Penentuan *operating time*

Stok ABTS sebanyak 1 mL dan stok trolox sebanyak 1 mL ditempatkan labu

takar 5 mL ditambah metanol p.a sampai tanda batas dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  745 nm.

h. Uji Aktivitas Antioksidan Trolox

Stok trolox 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 ppm, masing-masing diambil sebanyak 1 mL, tambahkan stok ABTS 1 mL ditempatkan labu takar 5 mL tambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis  $\lambda$  745 nm dan direplikasi 3 kali.

i. Uji aktivitas antioksidan ekstrak

Stok sampel ekstrak daun pandan wangi (1000 ppm) dibuat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm, masing-masing diambil 1 mL dan stok ABTS 1 mL, kemudian ditempatkan labu ukur 5 mL tambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS, dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Untuk pengujian antioksidan pada ekstrak etanol 96% menggunakan tahap pengujian yang sama dengan pengujian antioksidan pada ekstrak metanol seperti tahap pada huruf a, b, c, d, e, f, g, h dan i). yang berbeda adalah pelarut yang digunakan yaitu etanol p.a.

### Penetapan Kadar Fenolik Total

a. Pembuatan stok asam galat 1000 ppm

Asam galat sejumlah 10 mg, ditempatkan labu takar 10 mL tambahkan metanol p.a. hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

b. Pembuatan larutan seri konsentrasi asam galat

Stok asam galat 1.000 ppm dibuat seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm dilakukan dengan dipipet 250, 500, 750, 1000, 1250 dan 1500  $\mu$ L tempatkan dalam labu takar 5mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

c. Pembuatan larutan kurva baku asam galat

Larutan asam galat konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm sebanyak 200  $\mu$ L tempatkan dalam tabung reaksi kemudian tambahkan *Folin-ciocalteu* sebanyak 400  $\mu$ L dan ditambahkan 4.000

$\mu$ L  $Na_2 CO_3$  7% dan diukur dengan spektrofotometer  $\lambda$  745 nm.

d. Pembuatan larutan  $Na_2 CO_3$  7%

Natrium karbonat sebanyak 7 gram, kemudian tempatkan dalam labu ukur 100 mL tambahkan akuades hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

e. Pembuatan stok ekstrak metanol daun pandan wangi

Ekstrak metanol daun pandan wangi ditimbang 1 g ditempatkan dalam beker glas, larutkan dengan metanol p.a 10 mL dengan bantuan *magnetic stirrer* (300 rpm), selanjutnya larutan ekstrak ditempatkan labu takar 100 mL tambahkan metanol p.a. hingga tanda batas.

f. Penentuan  $\lambda$  maksimum

stok asam galat sejumlah 200  $\mu$ l k (150 ppm) ditempatkan labu takar 5 mL dan tambahkan dengan 400  $\mu$ l *folin-ciocalteu*, tambahkan 4 mL  $Na_2 CO_3$  7% dikocok hingga homogen dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  500 - 800 nm (Puspitasari dkk., 2019).

g. Penentuan *operating time*

Stok asam galat (150 ppm) diambil sebanyak 200  $\mu$ l, ditambah 400  $\mu$ l *folin-ciocalteu* dan 4 mL  $Na_2 CO_3$  7% kocok hingga larut dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  745 nm.

h. Penentuan kadar fenolik total ekstrak metanol daun pandan wangi

Larutan stok sampel sebanyak 200  $\mu$ L dipipet menggunakan mikropipet, ditambahkan 400  $\mu$ L *folin-ciocalteu* dan 4 mL  $Na_2 CO_3$  7% kocok hingga homogen. Kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dan direplikasi sebanyak 3 kali  $\lambda$  745 nm.

Untuk pengujian penetapan kadar fenolik total pada ekstrak etanol 96% daun pandan wangi menggunakan tahap penetapan kadar fenolik yang sama dengan ekstrak metanol daun pandan wangi seperti tahap pada huruf a, b, c, d, e, f, g dan h) yang berbeda adalah pelarut yang digunakan adalah etanol pa.

### Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan stok kuersetin (400 ppm)

Serbuk kuersetin sebanyak 10 mg, tempatkan dalam labu takar 25mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

b. Pembuatan larutan seri konsentrasi kuersetin 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm

stok kuersetin 400 ppm masing-masing dipipet 25, 50, 75, 100, 125 dan 150  $\mu$ L, ditempatkan labu takar 5 mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

c. Pembuatan stok  $\text{AlCl}_3$  10%

Serbuk  $\text{AlCl}_3$  sebanyak 500 mg, ditempatkan labu takar 5 mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019)

d. Pembuatan larutan induk Kalium asetat 1 M

Serbuk kalium asetat 1M ditimbang sebanyak 500 mg ditempatkan labu ukur 5 mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari dkk., 2019).

e. Larutan induk ekstrak metanol daun pandan wangi

Ekstrak metanol daun pandan wangi sebanyak 1 g, larutkan dengan metanol p.a dibantu magnetic stirrer kecepatan 300 rpm kemudian disaring dan letakkan dalam labu ukur 100 mL tambahkan metanol p.a hingga tanda batas.

f. Penentuan  $\lambda$  maksimum.

Larutan kuersetin 6 ppm sebanyak 1000  $\mu$ L ditempatkan labu ukur, tambahkan reagen  $\text{AlCl}_3$  10% sebanyak 200 $\mu$ L dan kalium asetat 1M sebanyak 200 $\mu$ L tambahkan metanol p.a hingga tanda batas dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  400 - 500 nm (Puspitasari dkk., 2019).

g. Penentuan *Operating Time* (OT)

Stok kuersetin 6 ppm diambil sebanyak 1000  $\mu$ L, tambahkan 200  $\mu$ L  $\text{AlCl}_3$  10% dan kalium asetat 1M sebanyak 200  $\mu$ L diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  430 nm.

h. Penetapan standar kuersetin

Larutan standar kuersetin 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 masing-masing diambil sebanyak 1000  $\mu$ L. Kemudian ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% sebanyak 200  $\mu$ L, dan kalium asetat

1M sebanyak 200  $\mu$ L diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  430 nm.

i. Penetapan Kadar flavonoid total daun pandan wangi

Ekstrak metanol daun pandan wangi 1000 $\mu$ L ditambah  $\text{AlCl}_3$  10% dan kalium asetat 1M sebanyak 200 $\mu$ L dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis  $\lambda$  430 nm.

Untuk pengujian penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96% daun pandan wangi menggunakan tahap penetapan kadar flavonoid total yang sama dengan ekstrak metanol daun pandan wangi seperti tahap pada huruf a, b, c, d, e, f, g dan h). yang berbeda adalah pelarut yang digunakan adalah etanol pa.

### Analisis Data

Hasil data presentase aktivitas antioksidan dari masing – masing konsentrasi dihitung menggunakan regresi linier  $y = bx+a$  diperoleh data rata-rata  $IC_{50}$  dan perhitungan kadar rata-rata fenolik total dan flavonoid total dinyatakan dalam satuan mgEGA/gr ekstrak dan mg EQ/gr ekstrak. Data rata-rata  $IC_{50}$  dan rata-rata kadar fenolik total dan flavonoid total dianalisis secara deskriptif.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstrak

Serbuk daun pandan wangi di ekstraksi menggunakan metode soxhlet. Metode soxhlet merupakan metode ekstraksi cara panas dengan penyarian secara berkesinambungan, sehingga menghasilkan lebih banyak ekstrak yang tersari. Hasil sampel dari beberapa pelarut yang berbeda ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen tiap sampel dari variasi pelarut

Variasi Pelarut	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Etanol 96%	100	16,5	16.5
Metanol	250	50,2	20,08

Tabel 1 menunjukkan bahwa, ekstrak daun pandan wangi yang diekstraksi

dengan metode soxhlet dengan pelarut etanol 96% memiliki nilai rendemen yaitu 16,5% dan pelarut metanol memiliki nilai rendemen sebesar 50,2%. Hasil yang diperoleh berbeda karena jumlah simplisia yang digunakan juga berbeda yaitu lebih banyak pada ekstrak metanol yaitu 250 gram, sehingga senyawa-senyawa kimia yang tahan terhadap pemanasan di dalam daun pandan wangi rendemennya lebih banyak tersari pada pelarut metanol karena simplisia yang digunakan juga lebih banyak daripada pelarut etanol 96%. Akan tetapi perbedaan jumlah simplisia yang digunakan tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan dan kadar fenolik totalnya. Metode soxhlet digunakan karena mampu untuk mengekstraksi senyawa kimia yang tahan terhadap pemanasan dan dapat menarik senyawa secara maksimal (Wijaya dkk., 2022). Selain itu metode ekstraksi soxhlet selalu menggunakan pelarut baru, penggunaan pelarut baru ini dapat meminimalisir terjadinya kejemuhan sehingga menyebabkan senyawa yang tersari semakin banyak (Ramayani dkk., 2021).

### Pengujian Antioksidan

Berdasarkan hasil uji antioksidan Trolox menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berada pada kategori sangat kuat. Untuk ekstrak dengan pelarut etanol 96% memiliki  $IC_{50}$   $41,544 \pm 1,415$  ppm dan ekstrak dengan pelarut metanol memiliki  $IC_{50}$   $51,4821 \pm 0,1075$  ppm. Hasil uji antioksidan untuk masing-masing sampel dan standar ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil perhitungan  $IC_{50}$  tiap sampel dan standar (Trolox)**

Sampel	Standar (Trolox)	$IC_{50}$ (ppm)
Ekstrak etanol 96%	$24,565 \pm 1,722$	$41,5440 \pm 1,4156$
Ekstrak metanol	$0,19,7011 \pm 0,0399$	$51,4821 \pm 0,1075$

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa Trolox merupakan zat uji yang

berfungsi sebagai pembanding, memiliki efek sebagai antioksidan. Trolox merupakan derivat vitamin E yang terlarut dalam pelarut air (Setiawan dkk., 2018). Nilai  $IC_{50}$  trolox sebesar  $19,7011 \mu\text{g/mL}$  pada ekstrak metanol daun pandan wangi dan nilai  $IC_{50}$  trolox sebesar  $24,565 \pm 1,7220$  dan ekstrak etanol 96% sehingga antioksidan yang diperoleh sangat kuat. Hasil ekstrak metanol daun pandan wangi diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar  $51,4821$  ppm, termasuk dalam kategori antioksidan kuat. Menurut penelitian Jeevanantham dan Hussain (2021), ekstrak metanol daun *A malabarica* dengan metode soxhlet memiliki  $IC_{50}$   $85,34$  ppm dengan kategori kuat dengan metode ABTS. Sedangkan pada ekstrak etanol 96% daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan pelarut etanol 96% daripada menggunakan pelarut metanol. Aktivitas antioksidan ini didukung dengan kadar senyawa fenolik total yang tinggi dalam ekstrak etanol 96% daripada ekstrak metanol daun pandan wangi. Menurut penelitian Ramayani dkk., (2021) menyatakan bahwa ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora*) yang diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan metanol diperoleh kadar fenolik dan flavonoid yang berbeda, etanol 96% sebesar  $2,48 \pm 0,08$  mgGAE/gram dan  $2,62 \pm 0,02$  mgQE/gram, metanol sebesar  $3,83 \pm 0,02$  mgGAE/gram dan  $4,42 \pm 0,01$  mgQE/gram.

### Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total

Asam galat (standar baku) merupakan senyawa fenolik turunan asam hidroksi benzoat golongan fenolik sederhana (Pamungkas dkk., 2017). Asam galat bereaksi dengan *folin-ciocateu* membentuk warna kuning menunjukkan adanya gugus fenol dan larutan natrium karbonat sebagai pemberi suasana basa, saat reaksi terjadi gugus hidroksil pada senyawa fenol bereaksi dengan *folin-ciocalteu* berwarna biru pekat ini menunjukkan konsentrasi ion fenolat sama yaitu semakin besar

konsentrasi senyawa fenolik maka, semakin banyak ion fenolat yang tereduksi asam heterofoli (*fosfomolibdat-fosfatungsat*) menjadi kompleks molibdenum-tungsen (Sahala dan Soegihardjo, 2012).

Kuersetin digunakan sebagai standar baku merupakan senyawa golongan flavonoid dan dapat membentuk kompleks (Ni'ma dan Lindawati, 2021). Prinsip penentuan kandungan flavonoid total adalah terbentuknya kompleks asam yang stabil antara  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus keto C-4 dan C-3 atau C-5 pada gugus hidroksil senyawa flavon dan flavonol. Dengan demikian,  $\text{AlCl}_3$  akan membentuk ikatan yang kuat dengan gugus orto dihidroksi pada cincin A atau B flavonoid sehingga membentuk warna yang dapat diukur pada spektrofotometer UV-Vis. Natrium asetat berfungsi sebagai penstabil pembentukan kompleks antara  $\text{AlCl}_3$  dengan flavonoid (Raharjo dkk., 2020).

Berdasarkan hasil pengujian, kandungan total senyawa fenolik pada ekstrak etanol 96% pandan wangi adalah  $119,324 \pm 5,739$  mgEAG/g. sedangkan kandungan fenolik ekstrak metanol daun pandan wangi memiliki nilai konsentrasi yang lebih rendah yaitu  $98,3684 \pm 1,5789$  mgGAE/g dan flavonoid  $7,7356 \pm 0,2350$  mgQE/g, hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang tidak tahan terhadap pemanasan di dalam ekstrak daun pandan wangi lebih banyak tersari menggunakan pelarut etanol 96% daripada pelarut metanol.

Berdasarkan rendemen ekstrak metanol daun pandan wangi diperoleh 50,2% dengan jumlah simplisia 250 g dibandingkan rendemen ekstrak etanol 96% daun pandan wangi yaitu 16,5% dengan jumlah simplisia 100 g ternyata tidak memberikan kadar fenolik total yang lebih tinggi. Disini dapat dikatakan bahwa pelarut yang digunakan dalam ekstraksi memberikan pengaruh, hal ini disebabkan kedua pelarut tersebut memiliki indeks polaritas yang berbeda yaitu etanol 5,2

sedangkan metanol 5,6 (Sudarmadji dkk., 1989).

Berdasarkan hasil penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun pandan wangi diperoleh nilainya yaitu  $5,452 \pm 0,077$  mgQE/g sedangkan nilai kadar flavonoid total dari ekstrak metanol daun pandan wangi memiliki nilai kadar yang lebih besar yaitu  $7,7356 \pm 0,2350$  mgQE/g. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid (flavonol) yang terdapat dalam ekstrak metanol daun pandan wangi yang tahan terhadap pemanasan lebih banyak tersari menggunakan pelarut metanol daripada pelarut etanol. Proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh sifat pelarut yang akan dipakai. Suatu senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang mempunyai polaritas sama atau mirip (Sudarmadji dkk., 1989). Selain itu senyawa flavonoid termasuk senyawa yang tidak mudah rusak karena pemanasan serta mudah larut dalam pelarut polar. Hasil penetapan kadar fenolik dan flavonoid total tiap sampel disajikan pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil kadar fenolik dan flavonoid total pada setiap sampel**

Sampel	Kadar rata-rata Fenolik Total (mgEAG/gram)	Kadar rata-rata Flavonoid Total (mgEQ/gram)
Ekstrak Etanol 96%	$119,324 \pm 5,7390$	$5,452 \pm 0,0770$
Ekstrak metanol	$98,3684 \pm 1,5789$	$7,7356 \pm 0,2350$

#### 4. SIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan kadar fenolik total yang tinggi dan ekstrak metanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan kadar flavonoid total yang tinggi.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih atas fasilitas laboratorium yang telah disediakan oleh Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Arnao, M. B., 2000, Some Methodological Problems in The Determination of Antioxidant Activity Using Chromogen Radical: A Practical Case, *Trends in Food Science & Technology*, **11**, 419 - 421
- Arifanti, L., Oktarina, R., D, Kusumawati, I., 2014, Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun Orthosiphon stamineus Bent. *Journal Husada*, 2, 1
- Fadlilaturrahmah., Nashrul, W., Akhmad, R. F., dan Saufy, A., 2020, Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Daun Kareho (*Callicarpa longifolia Lam*), *Pharma Xplore*, Vol. 5 No.1
- Hanif, Q, A., Nur, Y., Rijai, L., 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kenitu (*Chrysophullum caimito L.*) Dengan Dua Metode Ekstraksi, *Mulawarman Pharmaceutical Conferences*, Samarinda
- Hidayat, L.H., Hardickdo, N.F., Sutanti, V. and Prasetyaningrum, N., 2022. Uji Efektifitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Sebagai Antifungi Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro: Indonesia. E-Prodenta Journal of Dentistry, 6(1).
- Jeevanantham, K., dan Hussain, A. Z., 2021., Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Anisomeles malabarica* (L.) R. Br Leaves Extract
- Khairina, Rusdah., 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) Menggunakan Metode ABTS Serta Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total. Skripsi. Universitas Wahid Hasyim Semarang
- Ni'ma, A., dan Lindawati, Y.N. 2021, Analisis Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum Vulgare*) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Farma Sains dan Praktis*, Surakarta
- Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi, 2013,
- Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat, *Pillar of Physics* 2, 76 - 83.
- Nurhasnawati, H., Sukarni., Handayani F., 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soklet Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Samarinda
- Pamungkas, D. K., Retnaningtyas, Y., dan Wulandari, L., 2017, Pengujian Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Metanol Mangga Gadung (*Mangifera indica L. Var. gadung*) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*), e-jurnal Pustaka Kesehatan, 1, 48 - 49.
- Purwandari, R., Subagiyo, S. dan Wibowo, T., 2018, Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji. *Walisongo Journal of Chemistry*, **1**(2) 66 – 71.
- Purwanti, N.U., Yuliana, S. and Sari, N., 2018. Pengaruh Cara Pengeringan Simplicia Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Terhadap Aktivitas Penangkal. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, **1**(2).
- Puspitasari, A.D., Feristasari, F.A., dan Noubia, G.A.F., 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), 2 – 4
- Quyen, N.T.C., Quyen, N.T.N., Nhan, L.T.H., & Toan, T.Q., 2020, Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contens of *pandanus amaryllifolius* (Roxb), IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 1,1-8
- Ramadani, M., 2010, Upaya Penundaan Proses Penuaan (Degeneratif) Menggunakan Antioksidan dan Terapi Sulih Hormon, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, Vol. 5, No. 1
- Ramayani, S. L., Octaviana, R. W., dan

- Asokawati, S. S., 2021. Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Kadar Total Fenolik dan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.). *Journal Academi Pharmacy Prayoga*, 6 (2)
- Raharjo, D., Listyani, A.T., Pambudi, D.B., 2022. Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar Rhyzopora stylosa Metode ABTS dan FRAP, *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, Universitas Duta Bangsa Indonesia, Pekalongan.
- Sami, F.J., dan Sitti, R., 2016, Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonate), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2, 2.
- Sahala, A., dan Soegihardjo, C.J., 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Air Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode Folin-Ciocalteu. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Setiawan, F., Yunita, O., dan Kurniawan, A., 2018, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, *Media Pharmaceutica Indonesia* 2(2), 85 – 88
- Solichah, A.I., Anwar, K., Rohman, A. and Fakhrudin, N., 2021. Profil Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan Genus *Artocarpus* di Indonesia. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*. 9(2), 4 – 4
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi., 1989, *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta, 12.
- Verawati., Nofiandi. D., Petmawati., 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator*. Padang
- Wijaya, H., Jubaidah, S., Rukayyah., 2022. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soklet Terhadap Rendemen Ekstrak Batang Turi (*Sesbania Grandiflora* L.), *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*. Samarinda
- Werdhasari, A., 2014, Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68
- Yuslianti, E. R., 2018, Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan, Penerbit Deepublish, Yogyakarta