

Kajian Potensi Ekstrak Etil Asetat Daun Gagatan Harimau (*Ampelocissus thyrsoflora* (Blume) Planch)

Potential Study of Ethyl Acetate Extract of Gagatan Harimau Leaves (*Ampelocissus thyrsoflora* (Blume) Planch)

Metha Angelyne Naipospos¹, Henny Sri Wahyuni^{2*}, Sri Yuliasmi³, Nazliniawaty⁴,
Nilsya Febrika Zebua⁵

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

³Program Studi Farmasi, Fakultas Vokasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

⁴Departemen Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

⁵Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dien, Medan, Indonesia

Abstract

North Sumatra is home to diverse biodiversity, including promising medicinal species such as *Ampelocissus thyrsoflora* (Gagatan Harimau), known for its phenol and flavonoid content. This research focuses on the antioxidant potential of the ethyl acetate extract of this plant through antioxidant assays as well as determining the total phenol and flavonoid content. *Simplicia* were extracted by maceration method using ethyl acetate after defatting using *n*-hexane. Furthermore, phenolic content was analyzed using the Folin-Ciocalteu method which was determined in mg gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract, while flavonoid content was analyzed through the aluminum chloride ($AlCl_3$) test and expressed in mg quercetin equivalent (QE) per gram of extract. Evaluation of antioxidant activity was carried out through the ABTS radical capture method with IC_{50} value parameter. The results showed a total phenolic content of 92.89 ± 1.28 mg GAE/g extract and flavonoid content of 95.12 ± 1.97 mg QE/g extract. The results of antioxidant activity analysis stated strong potential with IC_{50} of 46.03 ± 0.09 μ g/mL. Antioxidant activity increased as the concentration of the extract increased, showing a strong linear correlation ($R^2 = 0.9984$). These results indicate that the ethyl acetate extract of *Ampelocissus thyrsoflora* leaves has the potential to be developed as a source of natural antioxidants in the pharmaceutical and functional food fields.

Keywords: ABTS, *Ampelocissus thyrsoflora*, antioxidant activity, ethyl acetate extract

Article history :

Submitted 23 April 2025

Accepted 30 Juli 2026

Published 31 Agustus 2026

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone:

+62 85255155883



Abstrak

Sumatera Utara merupakan rumah bagi keanekaragaman hayati, termasuk spesies obat yang menjanjikan seperti *Ampelocissus thyrsoiflora* (Gagatan Harimau), yang dikenal karena kandungan fenol dan flavonoid. Riset ini berfokus pada potensi antioksidan dari ekstrak *etil asetat* dari tanaman ini melalui uji antioksidan serta menentukan kandungan total fenol dan flavonoid. Simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan *etil asetat* setelah *defatting* dengan *n-heksana*. Selanjutnya, kandungan fenolik dianalisis menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* yang ditetapkan dalam mg asam galat ekuivalen (GAE) per gram ekstrak, sedangkan kadar flavonoid dianalisis melalui uji aluminium klorida (AlCl_3) dan dinyatakan dalam mg ekuivalen kuersetin (QE) per gram ekstrak. Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan melalui metode penangkapan radikal ABTS dengan parameter nilai IC_{50} . Hasil menunjukkan kadar total fenol sebesar $92,89 \pm 1,28$ mg GAE/g ekstrak dan kadar flavonoid sebesar $95,12 \pm 1,97$ mg QE/g ekstrak. Hasil analisis aktivitas antioksidan dinyatakan berpotensi kuat dengan IC_{50} sebesar $46,03 \pm 0,09$ $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, memperlihatkan korelasi linear kuat ($R^2 = 0,9984$). Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak *etil asetat* daun *Ampelocissus thyrsoiflora* berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami dalam bidang farmasi dan pangan fungsional.

Kata Kunci: ABTS, aktivitas antioksidan, *Ampelocissus thyrsoiflora*, ekstrak *etil asetat*

*Penulis Korespondensi:

Henny Sri Wahyuni, email: henny@usu.ac.id



This is an open access article under the CC-BY license

Highlight:

- Ekstrak daun Gagatan Harimau menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat.
- Ekstrak mengandung kadar total fenol dan flavonoid yang tinggi.
- Aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

PENDAHULUAN

Sumatera Utara dikenal memiliki kekayaan sumber daya alam hayati, salah satunya tumbuhan dari famili Vitaceae, *Ampelocissus thyrsoiflora* atau Gagatan Harimau yang secara tradisional digunakan oleh masyarakat Karo untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan seperti diare, luka diabetes, kelelahan, dan infeksi (Wasnis et al., 2022). Tradisi penggunaan ini mendorong perhatian ilmiah terhadap potensi bioaktif tanaman ini.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa Gagatan Harimau mengandung flavonoid, terpenoid, serta glikosida feniletanoid yang merupakan kelompok senyawa bioaktif yang diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologis. Glikosida feniletanoid merupakan turunan senyawa fenolik yang berpotensi besar sebagai agen terapeutik dalam pencegahan dan pengobatan penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif dan peradangan (Sun dan Shahrajabian, 2023). Senyawa ini diduga berperan sebagai antioksidan sebab mampu menyumbang atom hidrogen dengan cepat atau mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil (Surbakti et al., 2024). Studi oleh Wasnis et al. (2022) mengungkapkan bahwa glikosida feniletanoid dalam Gagatan Harimau berpotensi sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan, melalui mekanisme pendonoran atom hidrogen

untuk menetralkan radikal bebas. [Surbakti et al. \(2023\)](#) menyatakan bahwa ekstrak daun Gagatan Harimau mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai IC_{50} yang dikategorikan aktif yaitu menunjukkan adanya potensi antikanker pada tanaman ini.

Penelitian oleh [Nurani et al. \(2024\)](#) juga menguatkan potensi antioksidan tanaman ini, dengan kadar total fenol mencapai 298,128 mg GAE/g dan nilai IC_{50} sebesar 28,04 mg/L berdasarkan metode *DPPH*. [Surbakti et al. \(2024\)](#) memperkuat temuan tersebut dengan nilai IC_{50} sebesar 34,79 μ g/mL. Namun, sebagian besar penelitian terdahulu lebih banyak menggunakan metode *DPPH* untuk pengujian aktivitas antioksidan, dan belum banyak yang mengkaji aktivitas menggunakan metode ABTS, yang mampu mengukur reaktivitas terhadap radikal hidrofilik maupun lipofilik secara lebih luas.

Pemilihan ABTS sebagai metode pengujian juga dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan etil asetat yang bersifat semipolar. Etil asetat dipilih sebagai pelarut yang sesuai untuk metode ABTS karena kemampuannya dalam menarik komponen bioaktif yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Metode ABTS memungkinkan pengukuran aktivitas antioksidan dari senyawa yang bersifat lipofilik, yang sering kali lebih sulit diekstraksi dengan pelarut polar. Etil asetat dengan sifatnya yang semipolar membantu ABTS lebih optimal dalam mendeteksi berbagai jenis senyawa bioaktif.

Selain itu, masih terbatasnya data yang komprehensif terkait hubungan antara aktivitas antioksidan ekstrak *etil asetat* Gagatan Harimau dengan kadar total fenol dan flavonoid menunjukkan kajian lebih lanjut. Mengingat pentingnya senyawa fenolik dan flavonoid dalam menentukan kapasitas antioksidan tanaman, analisis kuantitatif terhadap kedua senyawa ini menjadi penting untuk memperoleh pemahaman yang lebih mendalam mengenai kontribusi bioaktifnya secara spesifik. Mengacu pada studi sebelumnya, kajian ini difokuskan pada pengujian kemampuan penangkal radikal bebas dari ekstrak *etil asetat* daun Gagatan Harimau menggunakan pendekatan uji ABTS, sekaligus melakukan analisis kuantitatif terhadap kandungan fenol dan flavonoid total. Tujuannya adalah memperkuat bukti ilmiah mengenai prospek pemanfaatan tanaman ini sebagai agen antioksidan alami dalam bidang farmasi.

METHODS

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Pengujian dimulai dengan pengumpulan dan pengolahan sampel, diikuti oleh karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia untuk menentukan kelompok senyawa yang terkandung pada sampel. *Etil asetat* digunakan untuk maserasi setelah pelarut *n-heksana* digunakan untuk proses penghilangan lemak (*defatting*). Selain itu, metode *Folin-Ciocalteu* digunakan untuk menganalisis total kandungan fenol, dan metode *AlCl₃* digunakan untuk menganalisis total kandungan flavonoid. Untuk mengukur kemampuan menangkal radikal bebas dilakukan dengan metode ABTS. Seluruh rangkaian pengujian dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Peralatan yang digunakan antara lain pipet tetes, pipet matt, corong, cawan porselen, gelas ukur, dan labu ukur. Peralatan tambahan yang digunakan meliputi *blue tip*, *aluminium foil*, botol maserasi, gelas dek, desikator, grinder, kertas perkamen, kertas saring, kertas *Whatman*, lemari pengering, lumpang dan alu, neraca analitik, gelas objek, oven, penggaris, penangas air, pH meter, rotary evaporator, sonikator dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan berikut digunakan: air suling, etanol, etil asetat, *n-heksana*, dan daun Gagatan Harimau (*Ampelocissus thyrsoiflora*). Aluminium klorida

($AlCl_3$), asam galat, asam asetat, natrium asetat (CH_3COONa), natrium karbonat (Na_2CO_3), metanol, kuersetin, ABTS, dan *Folin-Ciocalteu* termasuk di antara reagen kimia yang digunakan.

Sebelum memulai penyederhanaan bentuk sampel, dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Kadar air dan kadar abu lengkap disiapkan dengan metode yang dijelaskan dalam Farmakope Herbal Indonesia. Setelah pengeringan simplisia, proses penghilangan lemak dilakukan dengan mengukur *n-heksana* dengan rasio 1:3 (b/v) selama periode 24 jam. Setelah ini, dilakukan maserasi menggunakan pelarut *etil asetat* selama 5×24 jam dengan perbandingan 1:10 (b/v). Hasil penyaringan dari proses ini kemudian disempurnakan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga menghasilkan ekstrak kental.

Teknik *Folin-Ciocalteu* digunakan untuk menentukan total kandungan komponen fenolik. Setelah ekstrak sampel dilarutkan, sampel direaksikan dengan *natrium karbonat* (Na_2CO_3), reagen *Folin-Ciocalteu* dan air suling. Setelahnya, kombinasi diinkubasi selama 56-58 menit hingga akhirnya ditandai dengan warna biru tua jernih, serapan diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan memanfaatkan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji diubah menjadi miligram ekuivalen (mg) asam galat (GAE) per gram ekstrak.

Aluminium klorida ($AlCl_3$) digunakan sebagai reagen dalam prosedur spektrofotometri untuk menilai total kandungan flavonoid. Setelah menginkubasi sampel selama 29 menit untuk menjamin bahwa ekstrak dan $AlCl_3$ bereaksi secara sempurna yang ditandai dengan warna kuning lemah, absorbansi diukur pada 415 nm. Nilai konsentrasi flavonoid ditentukan dan ditampilkan dalam miligram ekuivalen kuersetin (QE) per gram ekstrak.

Teknik ABTS digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. *Kalium persulfat* dan larutan ABTS digabungkan untuk membuat larutan radikal $ABTS^+$, yang kemudian diinkubasi selama 12–16 jam dalam gelap untuk menghasilkan radikal yang stabil. Spektrofotometer UV-Vis kemudian digunakan untuk mendeteksi absorbansi pada panjang gelombang 734 nm setelah sampel digabungkan dengan larutan $ABTS^+$ dan dibiarkan bereaksi. Nilai IC_{50} digunakan sebagai indikator efektivitas antioksidan, yang menggambarkan jumlah ekstrak yang diperlukan untuk mereduksi setengah jumlah radikal bebas $ABTS^+$ dalam sistem reaksi. Setelah pemrosesan deskriptif dan kuantitatif, data tentang kadar total fenol, flavonoid, dan IC_{50} ditampilkan dalam tabel. Tujuan presentasi ini adalah untuk memudahkan pemahaman temuan sambil menunjukkan hubungan antara kapasitas antioksidan ekstrak dan jumlah bahan kimia bioaktif (fenol dan flavonoid).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi simplisia

Untuk menilai kualitas fisikokimia dari sampel dalam riset ini, dilakukan karakterisasi pada simplisia sebelum diolah. Karakteristik yang diperiksa meliputi kadar air, kadar sari, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Untuk menjamin mutu bahan dasar yang digunakan memenuhi persyaratan standar ekstrak sebagaimana tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia, maka faktor-faktor tersebut perlu dievaluasi. Sebagai dasar untuk prosedur ekstraksi selanjutnya, Tabel 1 menyajikan hasil uji karakterisasi yang mengkarakterisasi stabilitas dan kemurnian sediaan herbal.

Menurut Farmakope Herbal Indonesia, simplisia sampel memenuhi semua persyaratan karakterisasi simplisia. Dengan kadar air 6,65%, simplisia tersebut stabil

dan mampu menahan pertumbuhan mikroba dan kerusakan komponen kimia selama penyimpanan, yang membuatnya ideal untuk langkah ekstraksi berikutnya. Menurut pedoman Farmakope Herbal Indonesia, jumlah kontaminasi anorganik (seperti debu atau pasir) masih dalam batas aman (2–5%) berdasarkan kadar abu total (5,87%) dan abu tidak larut asam (0,37%) (Kemenkes, 2017). Tingkat kelarutan ekstrak dalam *etanol* (15,93%) dan air (19,30%) menunjukkan kemungkinan adanya bahan aktif yang dapat digunakan dalam formulasi sediaan herbal. Kemurnian simplisia ditunjukkan oleh rendahnya jumlah abu total dan abu tidak larut asam, dengan pengotor anorganik tetap di bawah ambang batas. Berdasarkan kriteria stabilitas, kemurnian, dan keamanan, simplisia sampel memenuhi standar mutu sebagai bahan baku obat herbal. Simplisia layak digunakan dalam pembuatan produk berbasis herbal karena temuan ini sesuai dengan kaidah Farmakope Herbal Indonesia.

Tabel 1. Karakterisasi simplisia daun *Ampelocissus thyrsoiflora*

Parameter	Hasil Rata-rata (%)
Kadar air	6,65
Kadar sari larut air	19,30
Kadar sari larut etanol	15,93
Kadar abu total	5,87
Kadar abu tidak larut asam	0,37

Hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Sampel dikenakan penyaringan fitokimia untuk menentukan golongan bahan kimia metabolit sekunder. Untuk menemukan zat-zat seperti alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan glikosida. Skrining fitokimia merupakan teknik kualitatif seperti reaksi warna. Tabel 2 memberikan ringkasan temuan analisis dan mencantumkan berbagai jenis zat bioaktif yang ditemukan dalam sampel.

Tabel 2. Kandungan metabolit sekunder simplisia dan ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Golongan	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	-
Flavonoid	+	+
Glikosida	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+

Note: (+) Present; (-) Absent

Telah dibuktikan bahwa sampel memuat tanin, glikosida, dan flavonoid. Zat-zat ini memiliki berbagai sifat farmakologis, seperti sifat antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan. Kapasitas antioksidan sampel secara khusus didukung oleh kandungan flavonoid dan taninnya, yang konsisten dengan temuan uji aktivitas antioksidan dan pengukuran kadar total fenol dan flavonoid (Surbakti et al., 2024). Hasil ini mendukung potensi ekstrak untuk dikembangkan sebagai komponen aktif dalam formulasi obat atau suplemen berbasis herbal.

Hasil penetapan total fenol

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum

Asam galat digunakan sebagai acuan untuk menganalisis total kandungan fenolik dari sampel. *Asam galat* dipilih di antara senyawa fenol tunggal lainnya karena stabilitas dan akurasi pengukuran yang unggul. Hal ini karena struktur *asam galat* mencakup tiga gugus hidroksil fenolik, yang dalam keadaan basa, mudah dioksidasi oleh reagen *Folin-Ciocalteu* (Ramadhan et al., 2021).

Ketika reagen *Folin-Ciocalteu* 10% ditambahkan ke larutan *asam galat*, kompleks molibdenum berwarna hijau kehitaman terbentuk. Selain itu, penambahan 10% Na_2CO_3 menghasilkan lingkungan basa yang menyebabkan proton fenol terdisosiasi menjadi ion fenolat, yang mengintensifkan rona kompleks (Ramadhan et al., 2021).

Larutan *asam galat* standar (20 $\mu\text{g/mL}$) diukur antara 200 dan 800 nm. Nilai absorbansi sebesar 0,6914 menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum dicapai pada 731 nm.

Hasil pengukuran *operating time* asam galat

Operating time atau penentuan waktu operasi bertujuan untuk mengetahui waktu reaksi yang dibutuhkan senyawa kompleks antara *asam galat*, *folin-ciocalteu*, dan Na_2CO_3 agar mencapai kestabilan maksimum. Pengukuran dilakukan dengan menghitung serapan setiap menit selama 60 menit setelah penambahan *folin-ciocalteu* dan Na_2CO_3 ke dalam larutan *asam galat*. Kompleks yang stabil terbentuk antara menit ke-56 dan ke-58 yang menunjukkan bahwa rentang waktu ini ideal untuk presisi pengukuran.

Hasil penentuan kurva kalibrasi baku asam galat

Larutan baku standar *asam galat* dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 $\mu\text{g/mL}$ digunakan untuk membuat kurva kalibrasi guna menentukan kadar fenol total. Setelah 56 menit inkubasi, absorbansi setiap larutan ditentukan pada panjang gelombang 731 nm. Ditentukan koefisien determinasi ($R^2 = 0,99629$) dan dengan persamaan regresi linier $y = 0,0078x + 0,02343$, Hasil penelitian membuktikan hubungan yang signifikan antara intensitas penyerapan dan konsentrasi *asam galat*.

Tabel 3. Data pengukuran serapan *asam galat* pada panjang gelombang 731 nm

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi
	I	II	III	
0	0	0	0	0
25	0,2434	0,2444	0,2424	0,2434
50	0,4250	0,4261	0,4232	0,4248
75	0,6026	0,6043	0,6025	0,6031
100	0,7949	0,7937	0,7948	0,7945

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ketika kandungan *asam galat* meningkat, nilai absorbansinya pun akan meningkat. Efek ini, yang menghasilkan warna yang lebih pekat dan penyerapan cahaya yang lebih banyak, disebabkan oleh terbentuknya lebih banyak kompleks molibdenum-tungsten pada konsentrasi tinggi (Hidayah dan Budgeti, 2022). Hal ini menunjukkan bahwa jumlah zat kimia fenolik dalam sampel berkorelasi langsung dengan absorbansi.

Hasil penentuan kadar total fenol ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Penetapan kadar fenol dilakukan dengan mengolah data absorbansi rata-rata dari sampel, yang kemudian dimasukkan ke dalam model persamaan kalibrasi regresi. Hasil

perhitungan dinyatakan dalam satuan *Gallic Acid Equivalent* (GAE), yang merepresentasikan kandungan senyawa fenolik setara dengan *asam galat*. Tabel 4 menampilkan nilai total kandungan fenol.

Persamaan regresi linier yang menghubungkan konsentrasi larutan *asam galat* standar dengan nilai serapan digunakan untuk menentukan total kandungan fenol. Berdasarkan hasil analisis, sampel memiliki total kandungan fenol sebesar $92,8912 \pm 1,28$ mg GAE/g sampel, yang berarti bahwa setiap gram sampel mengandung senyawa fenolik yang setara dengan 92,8912 mg *asam galat*. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk melakukan pengukuran ini dengan menggunakan teknik *Folin-Ciocalteu*. Berdasarkan reaksi reduksi antara senyawa fenolik dan reagen *Folin-Ciocalteu* (kombinasi tungsten dan molibdenum oksida), teknik ini mudah, tepat, dan sensitif. Penyerapan tertinggi kompleks biru yang dihasilkan dari reduksi logam terjadi pada panjang gelombang 765 nm (kisaran 750-770 nm). Intensitas warna yang dihasilkan berkaitan dengan konsentrasi fenol karena sebagian besar senyawa fenolik terurai menjadi ion fenolat pada pH 10, yang lebih reaktif terhadap reagen (Nurkhasanah et al., 2023). Struktur kimia senyawa fenolik, termasuk jumlah dan lokasi gugus hidroksil, tingkat glikosilasi, dan keberadaan gugus karboksil, memengaruhi aksi antioksidannya. Kontribusi zat-zat ini sebagai antioksidan kuat didasarkan pada kapasitasnya untuk menangkal radikal bebas, yang memiliki kapasitas untuk membahayakan sistem biologis (Diniyah dan Lee, 2020).

Tabel 4. Hasil pengukuran total fenol ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Replikasi	Rata-Rata Absorbansi	Kadar Total Fenol (mgGAE/g ekstrak)	Rata-Rata Kadar Total Fenol (mgGAE/g ekstrak)
1	0,7632	94,8462	$92,8912 \pm 1,28$
2	0,7659	92,4197	
3	0,7649	91,4078	

Hasil penentuan total flavonoid

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum

Spektrofotometer UV-Vis ditetapkan untuk menentukan serapan panjang gelombang maksimum setelah penambahan reagen $AlCl_3$ 10%, *natrium asetat* 1M, dan *air suling* pada konsentrasi 60 μ g/mL. Temuan analisis menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum standar *kuersetin*, yang berada di antara 400 dan 450 nm, berada pada 430,5 nm dengan serapan 0,4131. Serapan sampel kemudian diukur menggunakan panjang gelombang sebagai acuan (Daipadli et al., 2024).

Hasil pengukuran *operating time* *kuersetin*

Pengukuran *operating time* dilakukan untuk menentukan waktu pengukuran yang maksimal, sehingga dapat meminimalkan kesalahan dalam pengerjaan karena senyawa antara $AlCl_3$ dan *kuersetin* yang diukur absorbansinya dalam penelitian adalah senyawa kompleks yang membutuhkan waktu tertentu untuk mencapai kestabilan maksimum absorbansi (Suharyanto dan Prima, 2020). Pengukuran dilakukan pada interval waktu satu menit dengan total 60 menit pada panjang gelombang maksimum 430,5 nm. Hasil pengukuran menunjukkan kestabilan absorbansi terjadi pada menit ke-27 hingga ke-29, yang berarti selama rentang waktu tersebut, senyawa kompleks antara *kuersetin* dan $AlCl_3$ telah mencapai keadaan stabil untuk pengukuran lebih lanjut.

Hasil penentuan kurva kalibrasi baku *kuersetin*

Kurva kalibrasi *kuersetin* disusun dengan mengukur absorbansi pada konsentrasi 0, 40, 60, 80, 100, dan 120 µg/mL pada panjang gelombang 430,5 nm. Kadar flavonoid dalam sampel kemudian dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang dikorelasikan dengan data kurva kalibrasi.

Berdasarkan Tabel 5, kenaikan nilai serapan berkorelasi langsung dengan kenaikan konsentrasi larutan *kuersetin*. Hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi dan serapan diperkuat oleh koefisien korelasi ($R^2 = 0,9983$) dan persamaan regresi $y = 0,0072x - 0,003$ yang dihasilkan oleh penelitian ini. Kebenaran model regresi linier yang digunakan dikonfirmasi oleh nilai r yang mendekati 1. Temuan ini konsisten dengan Hukum *Lambert-Beer*, yang menyatakan bahwa dalam keadaan ideal dan panjang gelombang tetap, penyerapan larutan berbanding lurus dengan konsentrasi zat terlarut (Mukhriani et al., 2019).

Tabel 5. Data pengukuran serapan *kuersetin* pada panjang gelombang 430,5 nm

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-Rata Absorbansi
	I	II	III	
0	0	0	0	0
40	0,2883	0,2894	0,2898	0,2434
60	0,4072	0,4091	0,4094	0,4248
80	0,5867	0,5862	0,5862	0,6031
100	0,7005	0,7046	0,7048	0,7945
120	0,8651	0,8661	0,8665	0,8657

Hasil penentuan kadar total flavonoid ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Kandungan total flavonoid dalam sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dengan *kuersetin* dijadikan sebagai senyawa standar pembanding. Setelah tiga kali pengujian, hasilnya adalah 93,6030 mgQE/g, 94,4174 mgQE/g, dan 97,3472 mgQE/g. Dengan kandungan flavonoid rata-rata $95,1225 \pm 1,969$ mgQE/g ekstrak, sampel tersebut ditemukan memiliki sejumlah besar flavonoid yang dapat meningkatkan fungsi farmakologis seperti antioksidan. Tabel 6 menampilkan semua data pengujian kadar total flavonoid.

Tabel 6. Hasil pengukuran total flavonoid ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Replikasi	Rata-Rata Absorbansi	Kadar Total Flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata Kadar Total Flavonoid (mgQE/g ekstrak)
1	0,7024	97,9722	$95,1225 \pm 1,969$
2	0,6972	94,4174	
3	0,6979	93,6030	

Temuan analisis mengungkapkan bahwa kandungan flavonoid total sampel adalah $95,1225 \pm 1,969$ mgQE/g ekstrak, yang menunjukkan bahwa setiap gram sampel memiliki komponen flavonoid yang setara dengan 95,1225 mg *kuersetin*.

Total kandungan flavonoid ditentukan melalui persamaan regresi linier yang menggambarkan hubungan antara kadar standar *kuersetin* dengan tingkat serapan cahaya. Pendekatan ini didasarkan pada prinsip dasar spektrofotometri, di mana

intensitas serapan meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah zat terlarut dalam larutan. Prinsip ini sejalan dengan Hukum *Lambert-Beer*, yang menerangkan bahwa absorbansi (A) sebanding dengan konsentrasi (c) serta panjang lintasan cahaya (b), dengan mempertimbangkan koefisien serapan molar (ϵ), dirumuskan sebagai $A = \epsilon bc$. Dalam analisis ini, pembuatan kurva kalibrasi menggunakan *kuersetin* sebagai standar memungkinkan penentuan kadar flavonoid dalam sampel secara akurat, selama pengukuran dilakukan dalam rentang linier yang sesuai. Untuk memastikan keakuratan hasil, penting bahwa nilai absorbansi sampel berada dalam kisaran linearitas, karena pada konsentrasi tinggi, deviasi terhadap hukum ini dapat terjadi akibat pengaruh faktor optik dan kimia lainnya (Mukhriani et al., 2019).

Analisis aktivitas antioksidan sampel uji daun gagatan harimau metode ABTS **Hasil penentuan panjang gelombang maksimum ABTS**

Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menganalisis serapan maksimum larutan ABTS, dan hasilnya menunjukkan puncak serapan dengan nilai 0,3346 pada panjang gelombang 733 nm. Temuan ini dapat diandalkan karena mendukung pernyataan literatur bahwa rentang serapan ABTS berada di antara 610 dan 750 nm (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hasil analisis aktivitas peredaman radikal bebas ABTS dari larutan pembanding *kuersetin*

Pada pengujian aktivitas antioksidan metode ABTS digunakan *kuersetin* sebagai kontrol positif/pembanding. Aktivitas antioksidan *kuersetin* ini diperoleh dari pengukuran hasil absorbansi ABTS dengan penambahan larutan baku pembanding, serta konsentrasi masing-masing larutan pembanding 1 $\mu\text{g/mL}$; 2 $\mu\text{g/mL}$; 3 $\mu\text{g/mL}$; 4 $\mu\text{g/mL}$; 5 $\mu\text{g/mL}$ yang dibandingkan dengan kontrol ABTS (tanpa tambahan larutan pembanding).

Hasil plot kurva konsentrasi pembanding dengan persen peredaman diperoleh sebuah persamaan regresi linier, $y = -0,00950x + 0,88437$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,99844. Maka dapat disimpulkan bahwa *kuersetin* memiliki aktivitas antioksidan sebesar sebesar $4,2316 \pm 0,0310$ yang dengan nilai tersebut termasuk dalam golongan sangat kuat yaitu $<50 \mu\text{g/mL}$.

Aktivitas antioksidan pembanding yang tergolong sangat kuat ini memberikan indikasi bahwa senyawa tersebut efektif dalam menetralkan radikal bebas pada konsentrasi rendah. Hal ini menjadikan *kuersetin* sebagai kandidat potensial dalam pengembangan produk kesehatan dan kosmetik yang mengandalkan bahan aktif dengan kemampuan antioksidan tinggi. Selain itu, penelitian lanjutan mengenai bagaimana *kuersetin* bekerja di tingkat molekul bisa membantu kita lebih paham manfaatnya dalam melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas.

Hasil analisis aktivitas peredaman radikal bebas abts dari ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Metode ABTS digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan sampel pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 $\mu\text{g/mL}$. Kapasitas ekstrak sampel untuk menetralkan radikal bebas ditentukan dengan mengukur penurunan penyerapan setelah 0,1 mL sampel dan 2 mL larutan ABTS digabungkan. Aktivitas antioksidan sampel ditunjukkan oleh hasil yang menunjukkan penurunan nilai penyerapan yang cukup besar. Tabel 7 memberikan informasi terperinci tentang proporsi penghambatan radikal bebas ABTS pada berbagai konsentrasi.

Sampel memiliki kapasitas tinggi untuk menetralkan radikal bebas ABTS⁺. Nilai IC₅₀ sampel, sebagaimana ditentukan oleh persamaan regresi linier $y = -0,00950x + 0,88437$ (koefisien korelasi $R^2 = 0,99844$), adalah $46,0304 \pm 0,0946$ µg/mL. Nilai ini termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat, di bawah kategorisasi Molyneux (2003). Menurut Puspitasari dan Sumantri (2019), semakin rendah nilai IC₅₀, semakin kuat kapasitas antioksidannya. IC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk memblokir 50% radikal bebas. Komponen fenolik dan flavonoid sampel, yang memiliki kemampuan untuk menyumbangkan elektron atau proton guna menetralkan radikal bebas, diyakini menjadi sumber efektivitas ini (Sánchez-Moreno, 2002). Potensi flavonoid murni sebagai antioksidan superior dikonfirmasi oleh aktivitas *kuersetin* yang lebih besar (kontrol positif), yang memiliki IC₅₀ = $4,23 \pm 0,03$ µg/mL (Rice-Evans et al., 1996).

Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS oleh larutan pembanding dan ekstrak etil asetat daun gagatan harimau

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Rata-rata persen peredaman	IC ₅₀
		I	II	III		
Ekstrak Etil	0	0,8893	0,8876	0,8866	0	
	10	0,7819	0,7818	0,7818	11,939	$46,0304 \pm 0,0946$ (Sangat Kuat)
	20	0,6957	0,6948	0,6976	21,6028	
	30	0,6004	0,5993	0,5940	33,0024	
	40	0,5146	0,5139	0,5165	41,7437	
	50	0,4030	0,4022	0,4022	54,6356	
Kueretin	0	0,8508	0,8575	0,8503	0	
	1	0,7560	0,7567	0,7588	11,2195	$4,2316 \pm 0,0310$ (Sangat Kuat)
	2	0,6555	0,6518	0,6578	23,1940	
	3	0,5387	0,5335	0,5395	37,0064	
	4	0,4467	0,4485	0,4479	47,5058	
	5	0,3572	0,3561	0,3552	58,2382	

Hubungan yang sangat signifikan ($R^2 = 0,9984$) ditemukan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambatan radikal bebas, yang menunjukkan bahwa kemampuan antioksidan meningkat secara linear seiring dengan konsentrasi. Nilai R^2 sebesar 0,9984 menunjukkan bahwa hampir 99,84% variasi dalam persentase penghambatan radikal bebas dapat dijelaskan oleh perubahan konsentrasi ekstrak. Dengan kata lain, ada hubungan yang sangat kuat dan hampir linier antara konsentrasi sampel dan efektivitasnya dalam menghambat radikal bebas. Semakin tinggi konsentrasi, semakin besar kemampuan antioksidan yang ditunjukkan sampel tersebut. Nilai R^2 yang mendekati 1 ini memperlihatkan bahwa model hubungan konsentrasi dan aktivitas antioksidan sangat akurat dan dapat dipercaya, sehingga menegaskan signifikansi korelasi tersebut dalam konteks pengujian antioksidan. Penemuan ini meningkatkan potensi sampel sebagai sumber antioksidan alami yang layak untuk digunakan dalam sektor industri makanan, obat-obatan, dan industri kosmetik.

Hasil ini juga dipengaruhi oleh pelarut semipolar *etil asetat*. Zat kimia fenolik dan flavonoid semipolar diekstraksi dengan pelarut ini dan diyakini menjadi penyebab utama sifat antioksidan yang kuat dari sampel tersebut. Hal ini sejalan dengan temuan Kähkönen et al. (1999) dan Harborne (1987), yang menyatakan bahwa pelarut

semipolar seperti *etil asetat* lebih efektif mengekstrak flavonoid dibanding pelarut polar murni (misalnya *air* atau *etanol*). Keefektifan pelarut *etil asetat* dalam mengekstraksi senyawa semipolar seperti fenolik dan flavonoid menjadi kunci utama dalam memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi pada sampel. Senyawa-senyawa ini dikenal memiliki kemampuan menangkal radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron atau hidrogen. Selain itu, pelarut semipolar seperti *etil asetat* memiliki keseimbangan polaritas yang memungkinkan ekstraksi berbagai senyawa bioaktif yang kurang larut dalam pelarut yang sangat polar ataupun non-polar. Oleh karena itu, penggunaan *etil asetat* sebagai pelarut ekstraksi dapat meningkatkan konsentrasi senyawa antioksidan dalam sampel, yang berkontribusi langsung pada potensi perlindungan terhadap stres oksidatif. Temuan ini juga memperkuat urgensi pemilihan pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi untuk mendapatkan hasil yang optimal dari bahan-bahan alami.

KESIMPULAN

Menurut hasil analisis, ekstrak etil asetat daun *Ampelocissus thyrsiflora* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ sebesar 46,0304 ± 0,0946 µg/mL. Aktivitas ini berhubungan erat dengan kandungan total fenolik, yaitu sebesar 92,8912 ± 1,28 mg GAE/g dan flavonoid sebesar 95,1225 ± 1,969 mg QE/g. Tingginya aktivitas antioksidan tersebut berkaitan dengan efektivitas pelarut etil asetat dalam mengekstraksi senyawa bioaktif semipolar, khususnya senyawa fenolik dan flavonoid. Hubungan linear antara konsentrasi ekstrak dengan persen peredaman radikal bebas memperkuat kesimpulan bahwa ekstrak ini mempunyai potensi sebagai sumber antioksidan alami yang bisa dikembangkan untuk diaplikasikan pada bidang pangan, farmasi, maupun kosmetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Daipadli, D., Nurkhasanah, N., Yuliani, S., 2024. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Biji Kalangkala (*Litsea angulata* Blume) Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences* 8(1), 738-742. <https://journal.umbjm.ac.id/index.php/jcps/article/view/1541>
- Diniyah, N., Alam, M.B., Lee, S.H., 2020. Antioxidant Potential of Non-Oil Seed Legumes of Indonesian Ethnobotanical Extracts. *Arabian Journal of Chemistry* 13(5), 5208-5217. doi: 10.1016/j.arabjc.2020.02.019
- Gandjar, I.G., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Harborne, J.B., 1998. *Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 5th Edition. Chapman and Hall, London.
- Hidayah, L.A., Anggarani, M.A., 2022. Determination of Total Phenolic, Total Flavonoid and Antioxidant Activity of India Onion Extract. *Indonesian Journal of Chemical Science* 11(2), 123-135. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v11i2.54610>
- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan., 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(10), 3954-62. doi: 10.1021/jf990146l
- Molyneux, P., 2003. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl

- (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 26(2), 211–219.
- Mukhriani, M., Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., Arsul, M.I. 2019. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera L.*). AdDawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences 2(2), 95-102. <https://doi.org/10.24252/djps.v2i2.11503>
- Nurani, L.H., Edityaningrum, C.A., Guntarti, A., Zainab, Z., 2024. Teknik Ekstraksi dan Analisis Kimia Tumbuhan Obat. UAD Press, Yogyakarta.
- Nurkhasanah., Bachri, M.S., Yuliani, S., 2023. Antioksidan dan Stres Oksidatif. Yogyakarta: UAD Press.
- Puspitasari, A.D., Sumantri, S., 2019. Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus hystrix*) Menggunakan Metode ABTS. Majalah Farmasi dan Farmakologi 23(2), 48-51. <https://garuda.kemdiktisaintek.go.id/documents/detail/1232345>
- Ramadhan, H., Rezky, D.P., Susiani, E.F., 2021. Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi kosterma*). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia 8(1). 58-67. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. Free Radical Research Group, Division of Biochemistry and Molecular Biology 20(7), 933-956. doi:10.1016/0891-5849(95)02227-9
- Sanchez-Moreno, C., 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological Systems. International Journal of Food Science and Technology 8(3), 121-137.
- Suharyanto, S., Prima, D.A.N., 2020. Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas L.*) yang Berpotensi sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. Cendekia Journal of Pharmacy 4(2), 2599-2155. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.89>
- Sun, W., Shahrajabian, M.H., 2023. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants-Natural Health Products for Human Health. Molecules 28(4), 1-43. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Surbakti, C., Nasution, L.R., Rudang, S., Cintya, H., Vany, I., Agnes, P.A.T., Elsa, S., 2023. Toxicity Test of Ethanol Extract of Gagatan Harimau Leaves (*Vitis Gracilis BL*). on Artemia salina Leach Larvae Using Brine Shrimp Lethal Test (BSLT) Method. International Journal of Science, Technology & Management 4(6), 1501-1505.
- Surbakti, C., Nasution, L.R., Rudang, S., Cintya, H., Vany, I., Agnes, P.A.T., Elsa, S., 2024. Total Phenolic, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Standardized Extract of Gagatan Harimau Leaves (*Vitis gracilis BL*). International Journal of Applied Pharmaceutics 16(4), 38-43.
- Wasnis, N.Z., Ilyas, S., Hutahaean, S., Silaban, R., Situmorang, P.C., 2022. Effect of Vitis gracilis Wall (Gagatan Harimau) in the Recovery of Gastrocnemius Muscle Cells and Cytochrome C Expression of Mus Musculus. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research 10(2), 304-309. https://doi.org/10.56499/jppres21.1208_10.2.303
- Wasnis, N.Z., Ilyas, S., Hutahaean, S., Silaban, R., Situmorang, P.C., 2022. Analysis of Apoptotic Cells and Lung Inflammation after Given by Vitis gracilis. Pakistan Journal of Biological Sciences 25(11), 1033-1039. <https://europepmc.org/article/med/36591935>