

# AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT, DAN *n*-HEKSAN DAUN PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.)

Anita Dwi Puspitasari<sup>1)</sup>, Feristasari Fatmawati Anwar<sup>1)</sup>, Nouvia Gusty Auliyatul Faizah<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan; Telp.024-8505681.

Email: [anita@unwahas.co.id](mailto:anita@unwahas.co.id)

## Abstrak

Antioksidan mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Daun petai mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.) serta mengetahui adanya korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total dengan aktivitas antioksidannya.

Ekstraksi daun petai menggunakan metode ekstraksi perkolasi dengan pelarut etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan. Ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan ditetapkan kadar fenolik dan flavonoid total serta diuji aktivitas antioksidannya. Kadar fenolik dan flavonoid total diuji menggunakan metode kolorimetri dengan pembanding asam galat untuk penetapan kadar fenolik dan pembanding kuersetin untuk penetapan kadar flavonoid. Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pembanding vitamin C. Data yang diperoleh berupa kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji korelasi *Pearson* dan *Spearman*.

Kandungan fenolik total pada ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai berturut-turut sebesar 574,343 mg/gram; 465,925 mg/gram; dan 168,619 mg/gram, sedangkan flavonoid total sebesar 13,705 mg/gram; 23,068 mg/gram; dan 5,209 mg/gram. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai berturut-turut sebesar 49,744 µg/mL; 28,026 µg/mL; dan 271,021 µg/mL. Nilai IC<sub>50</sub> pada vitamin C sebesar 4,622 µg/mL. Terdapat korelasi sangat kuat dengan nilai -0,942 antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidannya dan terdapat korelasi sangat kuat dengan nilai -0,912 antara kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai.

**Kata Kunci** : Antioksidan, Fenolik, Flavonoid, Korelasi, *Parkia speciosa* Hassk.

## Abstract

Antioxidants are able to inactivate the development of oxidation reactions by preventing the formation of free radicals. Petai leaves contain phenolic compounds and flavonoids which can be used as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity, total phenolic levels and total flavonoids of petai leaf extract (*Parkia speciosa* Hassk.) And to find out the correlation between phenolic levels and total flavonoids with their antioxidant activity.

Extraction of petai leaves using percolation extraction method with 96% ethanol, ethyl acetate, and *n*-hexane solvent. Ethanol extract of 96%, ethyl acetate, and *n*-hexane were determined for total phenolic and flavonoid levels and tested for antioxidant activity. Phenolic and total flavonoid levels were tested using the colorimetric method with gallic acid comparison for phenolic content determination and quercetin comparison for the determination of flavonoid content. Antioxidant activity using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with vitamin C comparison. The data obtained in the form of total phenolic levels, total flavonoid levels, and IC<sub>50</sub> values of 96% ethanol extract, ethyl acetate, and *n*-hexane. The data obtained were analyzed statistically using the Pearson and Spearman correlation test.

The total phenolic content of 96% ethanol extract, ethyl acetate, and petai leaf *n*-hexane were 574,343 mg / gram respectively; 465,925 mg / gram; and 168,619 mg / gram, while total flavonoids were 13.705 mg / gram; 23,068 mg / gram; and 5,209 mg / gram. IC<sub>50</sub> values of 96% ethanol extract, ethyl acetate, and *n*-hexane of petai leaves were 49.744 µg / mL respectively; 28,026 µg / mL; and 271,021 µg / mL. IC<sub>50</sub> value of vitamin C was 4,622 µg / mL. There is a very strong correlation with the value of -0.942 between the total phenolic level and its antioxidant activity and there is a very strong correlation with the value of -0.912 between the total flavonoid levels on the antioxidant activity of 96% ethanol extract, ethyl acetate, and *n*-hexane petai leaves.

**Keywords** : Antioxidant, Phenolic, Flavonoid, Correlation, *Parkia speciosa* Hassk.

## 1. PENDAHULUAN

Tubuh manusia dapat mengalami reaksi oksidasi yang berlebihan sehingga terbentuk radikal bebas sangat aktif. Radikal bebas yang sangat aktif dapat merusak struktur sel, fungsi sel, dan dapat mengakibatkan penyakit degeneratif, seperti

penuaan, artritis, kanker, dan penyakit lainnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas merupakan suatu molekul, atom atau beberapa grup atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Muchtadi, 2013). Antioksidan mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, senyawa pemberi

elektron, dan memiliki berat molekul kecil. Terbentuknya radikal bebas dapat dicegah oleh antioksidan sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Tumbuhan petai (*Parkia speciosa* Hassk.) banyak tersebar di hutan Indonesia. Petai memiliki manfaat mengendurkan syaraf, menghilangkan depresi, obat hati, ginjal, dapat menurunkan kematian akibat stroke, serta dapat menjaga saluran pencernaan (Susilo, 2012). Daun petai mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan terpenoid (Butarbutar dkk., 2016; Nafi'ah, dkk., 2017).

Tumbuhan dapat menjadi sumber potensial antioksidan dengan adanya senyawa-senyawa yang terkandung didalam jaringan tanaman, diantaranya yaitu senyawa flavonoid maupun fenolik (Redha, 2010).

Senyawa flavonoid dan fenolik dapat diekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu etanol, etil asetat, dan *n*-heksan (Fitriansyah dkk., 2017). Menurut penelitian Fidrianny dkk (2015) pada berbagai macam variasi Legumes yaitu daun kacang hijau, daun kedelai dan daun kacang diperoleh kandungan fenolik tertinggi pada ekstrak etanol diikuti ekstrak etil asetat dan ekstrak *n*-heksan. Menurut penelitian Gul dkk. (2013) tentang kandungan flavonoid total pada daun *Abrus precatorius* hasil dari yang tertinggi sampai terendah yaitu flavonoid total ekstrak etil asetat, etanol, dan yang terakhir *n*-heksan. Korelasi kandungan fenolik telah terbukti memiliki hubungan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol dengan kadar fenoliknya yang menunjukkan korelasi sangat kuat pada ekstrak daun *Sesbania sesban* (L. Merr) (Fitriansyah dkk., 2017). Kadar flavonoid dan fenolik total pada daun kersen (*Muntingia calabura* L.) juga berkorelasi positif terhadap aktivitas antioksidan (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

## 2. METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain daun petai, etanol 96% teknis (Merck), etil asetat teknis (Merck), *n*-heksan teknis (Merck), asam galat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *folin-ciocalteu*, kuersetin (sigma), pereaksi AlCl<sub>3</sub> 10 % (Merck), CH<sub>3</sub>COOK, etanol p.a (Merck), DPPH (Merck), vitamin C (Phytotechnology Laboratories).

Alat yang digunakan antara lain alat gelas (Iwaki Pyrex), perkolator, desikator, ayakan mesh 40, timbangan elektrik (Ohaus), *moisture balance* (Ohaus), vacum dan corong buchner, oven, *rotary evaporator* (Heidolph), spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu), kuvet, *yellow tipe*, *blue tipe*, dan mikropipet.

## Metode penelitian

### Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman petai dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Identifikasi tanaman perlu dilakukan untuk memastikan tanaman yang digunakan benar-benar tanaman petai yang dimaksud, serta dapat menghindari terjadinya kesalahan pengambilan dan pengumpulan sampel bahan penelitian.

### Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Petai

Daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.) dicuci untuk menghilangkan pengotor yang menempel menggunakan air bersih mengalir. Daun petai yang sudah dicuci ditiriskan dahulu, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sampai kering. Untuk memperoleh serbuk daun petai, daun petai yang sudah kering diblender. Serbuk daun petai yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 40 mesh. Serbuk daun petai diukur kadar airnya dengan alat *moisture balance*. Persyaratan kadar air pada simplisia kering sebelum dilakukan proses penyarian yaitu kurang dari 10%. Serbuk yang diperoleh disimpan di tempat gelap supaya tidak terjadi dekomposisi kandungan senyawanya (Depkes RI, 1985).

### Pembuatan Ekstrak Daun Petai

Serbuk simplisia daun petai dimasukkan ke dalam 3 bekgelas dengan berat yang sama kemudian masing-masing bekgelas ditambahkan pelarut etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan untuk membasahi simplisia. Simplisia yang sudah basah dimasukkan dalam perkolator dan ditambahkan pelarut sampai batas atas didiamkan selama 24 jam. Pelarut dikeluarkan setiap 3 jam sekali. Perkolasi dilakukan sampai larutan yang keluar dari perkolator jernih. Perkolat ditampung dalam erlenmeyer dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang dan dimasukkan dalam gelas yang dilapisi kertas gelap kemudian disimpan dalam desikator (Prayogo, 2017).

### Penetapan Kadar Fenolik Total

- Pembuatan Larutan Induk Asam galat (1000 ppm)  
Sebanyak 10 mg asam gallat ditimbang, lalu ditambahkan dengan etanol p.a pada labu takar 10 mL hingga tanda batas bawah.
- Pembuatan Larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%

Natrium karbonat ditimbang 7 gram dilarutkan dalam 100 mL aquadest pada labu takar hingga tanda batas bawah.

- c. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol 96 %, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak *n*-Heksan Daun Petai

Ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam masing-masing beaker glass 50 mL, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL menggunakan bantuan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm sampai terlarut sempurna, disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas.

- d. Pembuatan Seri Konsentrasi Asam Galat

Seri konsentrasi dibuat pada berbagai seri yaitu 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm dalam 5 mL etanol p.a.

- e. Penentuan Panjang Gelombang ( $\lambda$ ) Maksimum Fenolik

Pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding asam galat. Sebanyak 200  $\mu$ L dari seri konsentrasi 150 ppm ditambahkan 400  $\mu$ L *Folin-Ciocalteu*, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 500-800 nm.

- f. Pengukuran *Operating Time* (OT)

*Operating time* diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding asam galat. Sebanyak 200  $\mu$ L dari seri konsentrasi 150 ppm ditambahkan 400  $\mu$ L *Folin-Ciocalteu*, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 743 nm.

- g. Penetapan Kurva Asam Galat

Sebanyak 200  $\mu$ L dari seri konsentrasi asam galat 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm ditambahkan 400  $\mu$ L *Folin-ciocalteu*, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 743 nm dan pada *operating time* menit ke-125.

- h. Pembacaan Absorbansi Sampel Ekstrak Fenolik Total Ekstrak Etanol 96 %, Ekstrak Etil Asetat, Ekstrak *n*-Heksan Daun Petai

Sampel ekstrak etanol 96% , etil asetat, dan *n*-heksan daun petai dipipet 200  $\mu$ L ditambahkan 400  $\mu$ L *Folin-ciocalteu*, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada

panjang gelombang maksimum 743 nm dan *operating time* menit ke-125. Dilakukan pengenceran sampel ekstrak hingga terbaca pada absorbansi antara 0,200 – 0,800 (replikasi 6 kali).

### Penetapan Kadar Flavonoid Total

- a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin (400 ppm)

Kuersetin sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol p.a. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan kuersetin 400 ppm.

- b. Pembuatan Larutan Induk  $\text{AlCl}_3$  10%

$\text{AlCl}_3$  sebanyak 500 mg dilarutkan dengan etanol p.a pada labu 5 mL hingga tanda batas.

- c. Pembuatan Larutan Induk Kalium Asetat 1M

Kalium asetat sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a pada labu takar hingga tanda batas.

- d. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol 96 %, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak *n*-Heksan Daun Petai

Ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam masing-masing beaker glass 50 mL, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL menggunakan bantuan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm (hingga terlarut sempurna), disaring dengan kertas saring ke dalam labu takar 50 mL kemudian ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas.

- e. Pembuatan Seri Konsentrasi Kuersetin

Seri konsentrasi dibuat pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm dalam 5 mL etanol p.a.

- f. Penentuan Panjang Gelombang ( $\lambda$ ) Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000  $\mu$ L dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 200  $\mu$ L dan 200  $\mu$ L  $\text{CH}_3\text{COOK}$  1M. Dibaca pada spektrofotometer UV-VIS pada range 400-500 nm.

- g. Penentuan *Operating Time* (OT)

Pengukuran *operating time* menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000  $\mu$ L dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 200  $\mu$ L dan 200  $\mu$ L  $\text{CH}_3\text{COOK}$  1M. Panjang gelombang maksimum dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 436,2 nm.

- h. Penetapan Kurva Baku Kuersetin

Sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dari seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm masing-masing ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 200  $\mu\text{L}$  dan 200  $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{COOK}$  1M. Dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 436,2 nm dan *operating time* 30 menit.

i. Pembacaan Absorbansi Sample Ekstrak Flavonoid Total

Sampel ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan *n*-heksan masing-masing dipipet 1000  $\mu\text{L}$  ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 200  $\mu\text{L}$  dan 200  $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{COOK}$  1M. Dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 436,2 nm dan *operating time* 30 menit (replikasi 6 kali).

### Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH 0,1 mM

DPPH sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol p.a dalam beaker glass. Dimasukkan dalam labu takar 250 mL, ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas.

b. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 50 mL hingga tanda batas.

c. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak

Ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan ditimbang 25 mg, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL menggunakan bantuan *magnetic stirrer* dalam beaker glass 50 mL dengan kecepatan 300 rpm sampai terlarut sempurna, disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas.

d. Pembuatan Seri Konsentrasi Vitamin C

Larutan induk Vitamin C dibuat seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm dipipet dan ditambahkan etanol p.a dalam labu takar 5 mL hingga tanda batas.

e. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak

Masing-masing sampel etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai dibuat seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm dari larutan induk sampel ekstrak 500 ppm dipipet dan ditambahkan etanol p.a dalam labu takar 5 mL hingga batas tanda.

f. Penentuan Panjang Gelombang ( $\lambda$ ) Maksimum

Larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan kedalam kuvet spektrofotometer, dibaca absorbansinya dengan blanko berupa etanol p.a pada range 450-550 nm.

g. Penentuan *Operating Time* (OT)

Seri konsentrasi 6 ppm dari vitamin C dipipet 1 mL, ditambahkan DPPH 4 mL dibaca pada panjang gelombang maksimum 517,40 nm hingga absorbansi stabil.

h. Penetapan Kurva Baku Vitamin C

Vitamin C pada masing-masing seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm dipipet 1 mL, ditambahkan 4 mL DPPH, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 517,40 nm dan pada *operating time* 30 menit (replikasi 3 kali).

i. Pembacaan Absorbansi Sampel Ekstrak

Sampel seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm dari ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 4 mL DPPH, didiamkan selama *Operating Time* 30 menit kemudian dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum 517,40 nm (replikasi 3 kali).

### Analisis Data

Kadar fenolik total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva baku asam galat, sedangkan kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva baku kuersetin. Aktivitas antioksidan daun petai dihitung dengan persentase aktivitas antioksidan sebagai sumbu y, nilai  $\text{IC}_{50}$  diperoleh ketika persentase aktivitas antioksidan (y) bernilai 50.

Data selanjutnya diolah dan dianalisis dengan program *SPSS for Windows version 16.00*. Data diuji dengan uji normalitas kemudian dilanjutkan dengan uji *Pearson* untuk data normal, dan uji *Spearman* untuk data tidak normal pada taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidannya.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan Ekstrak Daun Petai

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.) yang diperoleh dari daerah Wonopluwon Desa Sapen, Kecamatan Mijen, Semarang, Jawa Tengah. Daun petai yang digunakan adalah daun dewasa berwarna hijau, dan daun diambil dari anak tangkainya. Daun petai sebanyak 6 kg yang diperoleh dilakukan proses sortasi basah, pencucian, pengeringan, dan penyerbukkan simplisia. Penetapan kadar air serbuk daun petai menggunakan alat *moisture balance* dan kadar air yang diperoleh sebesar 7 %. Berat serbuk simplisia daun petai yang diperoleh sebanyak 2.225 gram. Susut pengeringan daun petai yaitu 62 %.

Senyawa kimia yang terkandung dalam bahan alam dapat diambil menggunakan cara ekstraksi. Ekstraksi daun petai dalam penelitian ini yaitu ekstraksi metode perkolasi menggunakan tiga pelarut yang berbeda yaitu etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan.

Alasan digunakan tiga pelarut yang berbeda adalah untuk mengetahui kandungan senyawa aktif fenolik dari daun petai berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda.

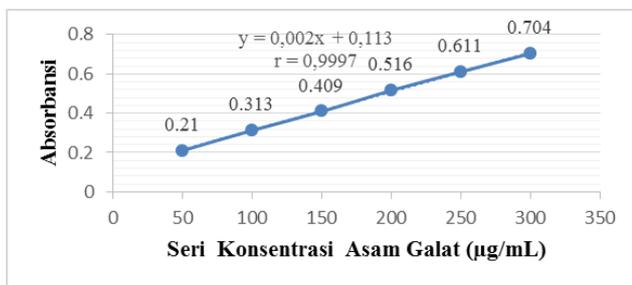
**Tabel 1.** Berat Ekstrak Etanol 96 %, Etil Asetat, dan *n*-Heksan serta Rendemen Daun Petai

No	Pelarut	Berat Serbuk (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	Etanol 96 %	200	55	27,5
2	Etil Asetat	100	31	31
3	<i>n</i> -Heksan	100	23,5	23,5

Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki kemampuan untuk mengikat lebih banyak komponen senyawa aktif dalam daun petai di ikuti oleh ekstrak etanol 96 %, dan *n*-heksan.

### Penetapan Kadar Fenolik Total

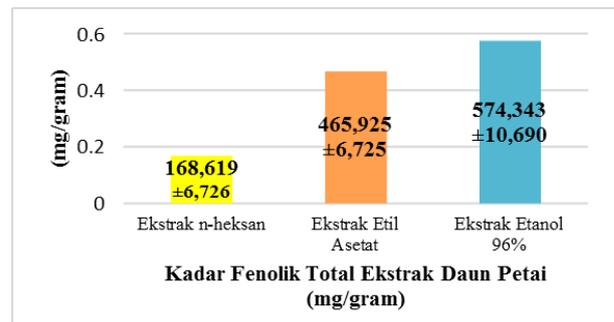
Penetapan kadar fenolik total diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimal asam galat dan diperoleh panjang gelombang sebesar 743 nm dan *operating time* pada menit ke-120. Perhitungan *operating time* dimulai ketika larutan asam galat dicampur dengan *Folin-ciocalteu* dan natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) dengan menggunakan panjang gelombang maksimal yang ditentukan tadi yaitu 743 nm. Hasil regresi linier dan persamaan kurva baku dari asam galat yang dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan panjang gelombang 743 nm dengan *operating time* menit ke-125 dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kurva Baku Asam Galat

Penetapan kurva baku asam galat menggunakan persamaan regresi linier, dimana menyatakan hubungan antara konsentrasi asam galat sebagai sumbu x dan absorbansi asam galat dengan pereaksi *Folin-ciocalteu* sebagai sumbu y. Nilai koefisien korelasi *r* yang diperoleh dari penentuan kurva baku asam

galat sebesar 0,9997 mendekati 1, dapat dikatakan terdapat linieritas hubungan antara konsentrasi asam galat dengan hasil absorbansinya.

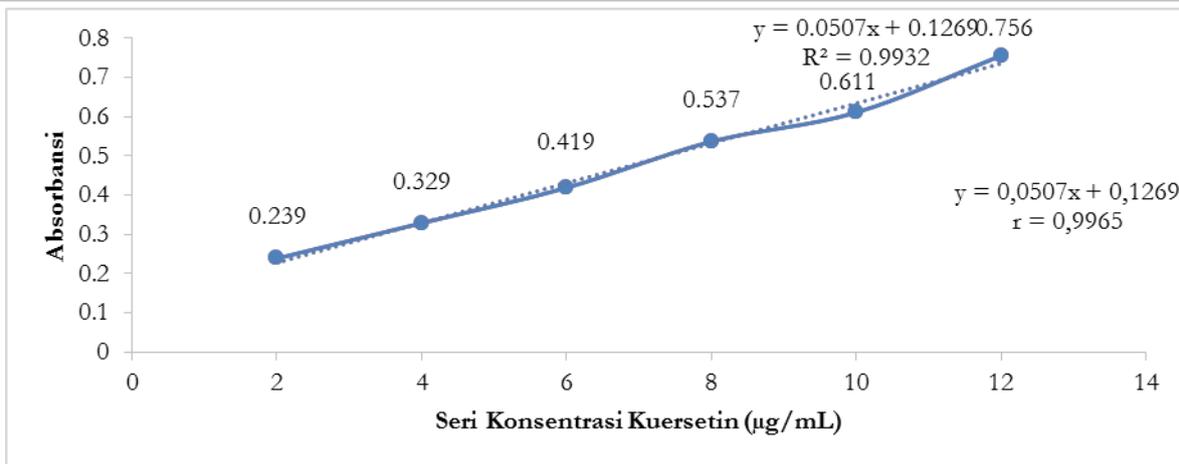


**Gambar 2.** Kandungan Fenolik Total

Hasil penentuan kadar ataupun kandungan total fenolik ekstrak etanol 96 % daun petai memberikan nilai tertinggi dibanding dengan ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan. Kandungan fenolik total ekstrak dengan tiga pelarut diatas menjelaskan bahwa senyawa fenolik pada ekstrak daun petai dimungkinkan mempunyai kepolaran yang sama dengan etanol 96 % dimana etanol merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etil asetat dan *n*-heksan.

### Penetapan Kadar Flavonoid Total

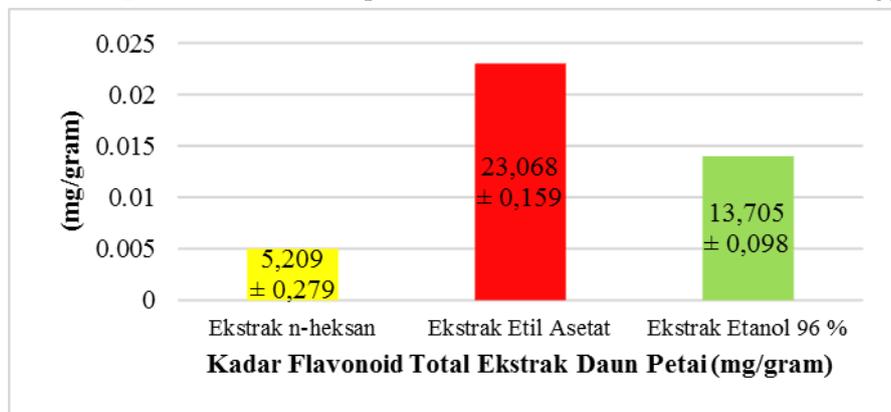
Penetapan kadar flavonoid total diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimal kuersetin dan diperoleh panjang gelombang sebesar 436,2 nm, kemudian dilakukan penentuan *operating time* diperoleh pada menit ke-30. Hasil regresi linier dan persamaan kurva baku dari kuersetin yang dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan panjang gelombang 743 nm dengan *operating time* menit ke-125 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Baku Kuersetin

Nilai r yang diperoleh dari penentuan kurva baku kuersetin sebesar 0,9965 yaitu mendekati angka 1. Nilai r mendekati 1 menunjukkan bahwa terdapat

hubungan kuat antara konsentrasi dengan absorbansi yang berbanding lurus, artinya semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi absorbansinya.



Gambar 4. Kadar Flavonoid Total

Hasil penentuan kandungan flavonoid total dari berbagai ekstrak yaitu ekstrak etil asetat memiliki kandungan flavonoid total lebih besar dari pada ekstrak etanol 96 % dan ekstrak *n*-heksan. Kandungan flavonoid total pada ekstrak etil asetat paling besar menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun petai mempunyai kepolaran yang sama dengan etil asetat.

#### Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan pembanding vitamin C. Panjang gelombang maksimal larutan DPPH 0,1 mM sebesar 517,4 nm dengan *operating time* larutan DPPH yang ditambahkan dengan vitamin c pada menit ke-30. Nilai IC<sub>50</sub> dari vitamin C sebesar 4,622 ppm yang tergolong dalam antioksidan yang sangat kuat. Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan daun petai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96 %, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak *n*-heksan Daun Petai

Sampel	Konsentrasi (µg/mL) (x)	Rerata Absorbansi	% Aktivitas antioksidan (y)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Ekstrak Etanol 96 %	20	0,551	41,507	Y = 0,3406 x + 33,0571 r = 0,9909	49,744
	40	0,511	45,754		
	60	0,465	50,637		
	80	0,377	59,979		

Sampel	Konsentrasi (µg/mL) (x)	Rerata Absorbansi	% Aktivitas antioksidan (y)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Ekstrak Etil Asetat	100	0,295	68,684	Y = 0,2866 x + 41,9677 r = 0,9982	28,026
	120	0,255	72,930		
	20	0,497	47,240		
	40	0,435	53,822		
	60	0,377	59,979		
	80	0,340	63,906		
Ekstrak n-Heksan	100	0,274	70,913	Y = 0,0793 x + 28,508 r = 0,9886	271,021
	120	0,223	76,327		
	20	0,663	29,618		
	40	0,639	32,166		
	60	0,624	33,758		
	80	0,613	34,926		
	100	0,598	36,518		
	120	0,584	38,004		

Hasil perhitungan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun petai mempunyai nilai IC<sub>50</sub> yang lebih kecil dari ekstrak etanol 96 % dan ekstrak n-heksan daun petai. Nilai IC<sub>50</sub> terkecil berarti aktivitas antioksidan terbesar pada daun petai terdapat pada ekstrak etil asetat. Etil asetat memberikan pengaruh efektivitas yang tinggi sebagai antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar sehingga banyak komponen bioaktif yang larut didalamnya (Huliselan dkk., 2015).

#### Korelasi Kadar Fenolik Total dan Flavonoid total Terhadap Aktivitas Antioksidannya

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan antara kadar fenolik total terhadap aktivitas antioksidan. Metode analisis statistik yang digunakan pada penelitian kali ini menggunakan *software SPSS 16.0*. Korelasi fenolik total dengan aktivitas antioksidannya di uji normalitas nya menggunakan *shapiro wilk* menunjukkan data terdistribusi normal karena signifikansi yang diperoleh > 0,05. Karena data terdistribusi normal maka uji korelasi menggunakan korelasi *pearson product moment*. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 < 0,05 yang berarti terdapat korelasi atau hubungan yang signifikan antara kadar fenolik total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan daun petai dengan arah korelasi negatif sebesar -0,942 dan dikatakan menunjukkan korelasi yang sangat kuat. Korelasi flavonoid total dengan aktivitas antioksidannya di uji normalitas nya menggunakan *shapiro wilk* menunjukkan data tidak terdistribusi normal karena signifikansi yang diperoleh < 0,05. Data yang tidak

terdistribusi normal diuji menggunakan korelasi *Spearman*. Hasil signifikansi sebesar 0,000 < 0,05 berarti bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan daun petai dengan arah korelasi negatif sebesar -0,912 dan dikatakan terdapat korelasi yang sangat kuat.

#### 4. SIMPULAN

- Kandungan fenolik total yang terdapat pada ekstrak etanol 96 % daun petai sebesar 574,343 mg/gram, ekstrak etil asetat sebesar 465,925 mg/gram, dan ekstrak n-heksan sebesar 168,619 mg/gram Kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun petai sebesar 13,705 mg/gram, ekstrak etil asetat sebesar 23,068 mg/gram, dan ekstrak n-heksan sebesar 5,209 mg/gram.
- Aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol 96 % daun petai sebesar 49,744 µg/mL, ekstrak etil asetat sebesar 28,026 µg/mL, dan ekstrak n-heksan sebesar 271,021 µg/mL.
- Terdapat korelasi yang sangat kuat dengan arah korelasi negatif sebesar -0,942 antara kadar fenolik total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan n-heksan daun petai. Terdapat korelasi yang sangat kuat antara kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan n-heksan daun petai sebesar -0,912.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Buanasari., Eden, W.T., dan Solichah, A.I., 2017, Extraction of Phenolic Compound from Petai Leaves (*Parkia speciosa* Hassk.) Using Microwave and Ultrasound Assisted Methods, *JBAT*, 6 (1), 25-31.
- Butarbutar., R.H., Robiyanto., dan Untari, .K., 2016, Potensi Ekstrak Etanol Daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Pada Plasma Tikus yang Mengalami Stres Oksidatif, *Pharmacog Science Research*, 3 (2), 97-106.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, Jakarta, 2-25.
- Fidrianny, I., Aristya, T., and Hartati, R., 2015, Antioxidant Capacities of Various Leaves Extracts from Three Species of Legumes and Correlation with Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(3), 628-634.
- Fitriansyah, S., Fidrianny, I., dan Ruslan, K., 2017, Correlation of Total Phenolic, Flavonoid and Carotenoid Content of *Sebania sesban* (L. Merr) Leaves Extract with DPPH Scavenging Activities, *International Journal of uijPharmacognosy and Phytochemical Research*, 2 (1), 89-94.
- Gul, M.Z., Ahmad, F., Kondapi, A.K., Quereshi, I.A., dan Ghazi, I.A., 2013, Antioxidant and Antiproliferative Activities of *Abrus precatorius* Leaf Extract-an In Vitro Study, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15 (53), 1-12.
- Huliselan, Y.M., Runtuwene, M.R.J., dan Wewengkang, D.S., Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan *n*-heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4 (3), 155-162.
- Muchtadi, D., 2013, *Antioksidan & Kiat Sehat di Usia Produktif*, Alfabeta, Bandung, 28-116.
- Nafi'ah, R., Haryati, E., dan Tamara, N.C., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Journal of Holistic and Health Scienc*, 1 (2), 150-158.
- Prayogo, L.S., 2017, Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.), *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Puspitasari, A.D., dan Wulandari, R.L., 2017, Antioxidant activity, determination of total phenolic and flavonoid content of *Muntingia calabura* L. Extract, *Pharmaciana*, 7 (2), 147-158
- Redha, A., 2010, Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis, *Jurnal Belian*, 9 (2), 296-202.
- Susilo, J., 2012. *Budidaya Petai Prospek Pasar Terbuka Lebar*, Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Winarsi, H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Alami*, Kanisius, Yogyakarta, 10-20.