

Kuantifikasi Flavonoid dan Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Nilam (*Pogostemon cablin*) Menggunakan Uji DPPH

*Flavonoid Quantification and Antioxidant Activity Analysis of Patchouli Leaf (*Pogostemon cablin*) Extracts using DPPH Assay*

Natasya Dila Putri Anggraini¹, Ganet Eko Pramukantoro¹, Mega Novita², Dian Marlina^{1*}

¹ Faculty of Pharmacy, Universitas Setia Budi, Jl. Letjend Sutoyo Mojosongo, Surakarta, 57127, Indonesia

² Postgraduate Program of Natural Science Education, Universitas PGRI Semarang, Jl. Sidodadi Timur 24, Semarang, 50232, Indonesia

*Email: marlina@setiabudi.ac.id

Article history:

Diterima : 10 Mei 2025
Direvisi : 30 Juli 2025
Disetujui : 19 Agustus 2025
Mulai online : 27 September 2025

E-ISSN: 2337-4888

How to cite:

Natasya Dila Putri Anggraini, Ganet Eko Pramukantoro, Mega Novita, Dian Marlina. (2025). Kuantifikasi Flavonoid dan Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Nilam (*Pogostemon cablin*) Menggunakan Uji DPPH. Jurnal Teknik Kimia USU, 14(2), 74-83.

ABSTRAK

Daun nilam (*Pogostemon cablin*) diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Namun, masih sedikit tersedia data yang membandingkan kandungan flavonoid serta aktivitas antioksidan dari berbagai fraksi ekstrak daun nilam secara sistematis. Untuk menjawab kekosongan informasi ini, penelitian ini dilakukan guna menganalisis kadar flavonoid total serta mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan tiga fraksi pelarut n-heksana, etil asetat, dan air dengan metode DPPH sebagai indikator aktivitas radikal bebas. Proses ekstraksi dilakukan melalui teknik maserasi yang kemudian dilanjutkan dengan pemisahan fraksi. Penetapan kadar flavonoid menggunakan pendekatan kolorimetri berbasis reaksi dengan aluminium klorida, sedangkan uji daya antioksidan dilaksanakan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki konsentrasi flavonoid tertinggi sebesar $1,615 \pm 0,0591\%$ dan menunjukkan kemampuan antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $17,3909 \pm 0,1327 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan temuan ini, fraksi etil asetat dinilai memiliki prospek tinggi sebagai agen antioksidan alami yang berpotensi diaplikasikan dalam bidang farmasi maupun produk kesehatan berbasis nutraseutikal.

Kata kunci: daun nilam, ekstrak, flavonoid, aktivitas antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Patchouli leaves (*Pogostemon cablin*) are known to contain flavonoid compounds with potential antioxidant properties. However, comparative data on flavonoid content and antioxidant activity across different extract fractions of patchouli leaves remain limited. To address this gap, the present study was conducted to analyze the total flavonoid content and evaluate the antioxidant activity of the ethanol extract and three solvent fractions—n-hexane, ethyl acetate, and water using the DPPH method as an indicator of free radical scavenging activity. The extraction was carried out through maceration, followed by fractionation. The determination of flavonoid content employed a colorimetric method based on the aluminum chloride reaction, while antioxidant activity was assessed using the DPPH assay. The results revealed that the ethyl acetate fraction contained the highest flavonoid concentration ($1.615 \pm 0.0591\%$) and exhibited very strong antioxidant activity, with an IC_{50} value of $17.3909 \pm 0.1327 \mu\text{g/mL}$. These findings suggest that the ethyl acetate fraction holds significant potential as a natural antioxidant agent, with possible applications in the pharmaceutical field or nutraceutical-based health products.

Keyword: patchouli leaves, extract, flavonoid, antioxidant activity, DPPH



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v14i2.20795>

1. Pendahuluan

Stres oksidatif merupakan kondisi patologis yang terjadi ketika produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) melebihi kapasitas sistem pertahanan antioksidan tubuh, sehingga menyebabkan kerusakan sel dan disfungsi jaringan [1], [2]. Ketidakseimbangan ini dapat disebabkan oleh paparan senyawa asing (xenobiotik), lemahnya sistem antioksidan tubuh, atau produksi ROS/RNS yang berlebihan. Stres oksidatif yang berlangsung secara terus-menerus telah dikaitkan dengan etiologi berbagai penyakit kronis seperti kanker, diabetes, penyakit kardiovaskular, gangguan neurodegeneratif, artritis reumatoid, dan penyakit autoimun [3], [4]. Radikal bebas diketahui dapat merusak membran sel, protein, lipid, dan DNA, yang pada akhirnya mengganggu fungsi biologis [5]. Berbagai jalur molekuler seperti *toll-like receptor signaling* dan interaksi reseptor-sitokin juga dapat terganggu dalam kondisi oksidatif, yang mengakibatkan disfungsi sistem imun [6]. Tubuh memanfaatkan antioksidan yang bekerja dengan menstabilkan radikal bebas melalui donasi elektron untuk melawan stres oksidatif, sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai yang merusak [7]. Antioksidan diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu sintetis dan alami. Namun, konsumsi jangka panjang antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) telah menimbulkan kekhawatiran terhadap dampak kesehatannya [8]. Sebaliknya, antioksidan alami dianggap lebih aman dan kini banyak diteliti untuk potensi terapeutiknya [9]. Di antara antioksidan alami tersebut, flavonoid senyawa polifenolik yang secara alami terdapat dalam tumbuhan menarik perhatian karena manfaat kesehatannya yang beragam. Flavonoid dikenal memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan sitoprotektif [10]. Senyawa ini telah terbukti mampu menangkap ROS, mengurangi stres oksidatif, serta meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh [11]. Meskipun tanaman yang mengandung flavonoid seperti daun nilam (*Pogostemon cablin*) diketahui memiliki potensi antioksidan yang tinggi, studi yang mengevaluasi aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid dari fraksi-fraksi spesifiknya menggunakan uji DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengisi celah tersebut dengan melakukan kuantifikasi flavonoid dan mengevaluasi sifat antioksidan dari ekstrak daun nilam serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan airnya menggunakan metode DPPH *radical scavenging*.

Flavonoid memiliki struktur dasar C6-C3-C6 dan terbagi menjadi beberapa kelas seperti flavonol, flavon, isoflavon, dan antosianin, yang masing-masing memiliki mekanisme antioksidan yang unik [12]. Senyawa ini disintesis melalui jalur asam shikimat dan berperan dalam pigmentasi tumbuhan, perlindungan terhadap sinar UV, serta ketahanan terhadap patogen [13]. Aktivitas antioksidan flavonoid utamanya dilakukan melalui donasi elektron dan khelasi logam, menjadikannya agen yang efektif dalam menangkal ROS dan RNS.

Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan kandungan flavonoid yang tinggi dan potensi antioksidan dari daun nilam. Misalnya, Dechayont et al. melaporkan bahwa ekstrak etanol daun nilam memiliki total kandungan flavonoid sebesar $280,12 \pm 2,04$ mgGAE/g dan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $18 \pm 0,90$ μ g/mL pada uji DPPH [14]. Temuan ini mendukung eksplorasi lebih lanjut terhadap kandungan flavonoid dan efektivitas antioksidan dari berbagai fraksi ekstrak untuk memahami distribusi fitokimia dan aktivitas biologisnya.

Penelitian mengenai antioksidan alami selama ini sebagian besar berfokus pada ekstrak kasar tanaman, sementara potensi antioksidan dari fraksi berdasarkan pelarut masih sering diabaikan. Studi telah menunjukkan bahwa polaritas pelarut sangat memengaruhi kelarutan senyawa bioaktif, sehingga berdampak pada hasil uji antioksidan [15]. Misalnya, senyawa fenolik dan flavonoid umumnya lebih terkonsentrasi dalam fraksi etil asetat dan air, sedangkan senyawa non-polar cenderung ditemukan dalam fraksi *n*-heksana [16], [17]. Oleh karena itu, fraksinasi dapat memberikan gambaran yang lebih rinci tentang kandungan antioksidan dalam tanaman. Walaupun daun nilam telah dikenal memiliki potensi sebagai tanaman obat, studi mendalam yang mengevaluasi aktivitas antioksidan dari setiap fraksi ekstraknya terutama fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air masih jarang dilakukan. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya menggunakan ekstraksi berbasis etanol tanpa melakukan diskriminasi fitokimia lebih lanjut [18]. Oleh karena itu, studi ini mengidentifikasi adanya kesenjangan penelitian dalam evaluasi sistematis terhadap tiap fraksi pelarut dari daun nilam menggunakan metode valid seperti uji DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur total kandungan flavonoid dan menilai aktivitas antioksidan dari ekstrak daun nilam beserta fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan airnya melalui uji DPPH. Kebaruan dari penelitian ini terletak pada fokusnya terhadap perbandingan kapasitas antioksidan dari berbagai fraksi pelarut suatu aspek yang belum banyak dieksplorasi secara menyeluruh pada daun nilam. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi fraksi dengan potensi antioksidan tertinggi dan berkontribusi pada pengembangan sumber antioksidan alami yang aman.

2. Metode

Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan berbagai alat dan bahan untuk memastikan hasil percobaan yang akurat dan andal. Alat-alat yang digunakan meliputi alat sterilisasi Bidwell, blender, ayakan mesh 40, gelas ukur, botol maserasi, kain flanel, corong Buchner, *rotary evaporator*, *water bath*, spektrofotometer UV-Vis, *moisture balance*, kuvet, kertas saring, labu ukur, corong pisah, pipet tetes, oven, pipet volume, dan tabung reaksi. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun nilam, etanol 96%, AlCl_3 10%, natrium asetat, akuades, n-heksana, etil asetat, kuersetin, serbuk magnesium, serbuk DPPH, FeCl_3 , alkohol amil, reagen Dragendorff, reagen Mayer, reagen Bouchardat, dan asam klorida pekat. Sebelum digunakan, daun nilam ditentukan keasliannya melalui penetapan morfologi di UPT Laboratorium Materia Medika Batu untuk memastikan kesesuaian spesimen tanaman dan menghindari kesalahan identifikasi. Proses percobaan dilakukan dalam kondisi laboratorium yang terkontrol, dimulai dari tahap persiapan, ekstraksi, fraksinasi, hingga analisis. Alat-alat seperti *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, dan *moisture balance* digunakan pada tahapan tertentu untuk memastikan ketepatan dalam proses pengeringan, konsentrasi ekstrak, dan penentuan kadar senyawa. Seluruh larutan ditangani menggunakan peralatan gelas yang sesuai, dan pengukuran dilakukan dengan alat yang telah dikalibrasi guna menjaga konsistensi hasil.

Tahapan percobaan diawali dengan identifikasi morfologi daun nilam, yang dikonfirmasi di UPT Laboratorium Materia Medika Batu. Setelah konfirmasi, sebanyak 3 kg daun nilam dipilih, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran serta kontaminan, lalu dikeringkan dengan metode penganginan selama lima hari. Daun yang telah kering kemudian dipotong kecil, dihancurkan menggunakan alat penghancur (*crusher*), dan diayak menggunakan saringan berukuran 40 mesh untuk memperoleh serbuk yang seragam. Untuk menentukan kadar kehilangan air, sebanyak 2 gram serbuk daun nilam dimasukkan ke dalam wadah aluminium dan dianalisis menggunakan *moisture balance* pada suhu 105°C hingga alat menunjukkan hasil akhir berupa persentase susut kering.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 600 gram serbuk daun nilam direndam dalam 6 liter etanol 96% (rasio 1:10) selama 48 jam. Filtrat hasil maserasi pertama disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Maserasi kedua dilakukan dengan 3 liter etanol 96% (rasio 1:2) selama 24 jam dan disaring dengan cara yang sama. Kedua filtrat digabungkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Kadar air dari ekstrak kental dianalisis menggunakan metode azeotropi (distilasi toluena) dan dibandingkan dengan batas kadar air yang diperbolehkan, yaitu maksimal 14,76% [19].

Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Sebanyak 10 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%, kemudian ditambahkan 70 mL akuades dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan penambahan total 300 mL *n*-heksana (sebanyak empat kali penambahan masing-masing 75 mL) untuk memperoleh fraksi *n*-heksana. Sisa fase air kemudian difraksinasi kembali dengan total 300 mL etil asetat (empat kali penambahan masing-masing 75 mL) untuk memperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Semua fraksi diuapkan pada suhu 60°C menggunakan *water bath*, kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup.

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak dan masing-masing fraksi dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, dengan tujuan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

Penetapan Kadar Flavonoid

Kadar flavonoid total ditetapkan menggunakan kuersetin sebagai standar. Sebanyak 0,2 gram ekstrak atau fraksi dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a., kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Sebanyak 0,5 mL larutan uji direaksikan dengan 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Setelah didiamkan sesuai waktu yang ditentukan, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dari persamaan regresi linear.

$$y = a + bx \quad (1)$$

Dalam persamaan regresi tersebut, y merepresentasikan konsentrasi flavonoid, sedangkan x menunjukkan absorbansi dalam sampel [20]. Selanjutnya, kadar total flavonoid dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar Flavonoid Total} = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right) \times \text{Volume Sampel}}{\text{Bobot Sampel}} \times \text{FP} \quad (2)$$

Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH)

Metode DPPH digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan. Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM disiapkan dengan melarutkan 15,8 mg bubuk DPPH ke dalam 100 mL etanol. Larutan ini digunakan sebagai kontrol, sedangkan etanol absolut (p.a.) berperan sebagai blanko dalam pengukuran spektrofotometri. Kuersetin digunakan sebagai pembanding (kontrol positif). Prosedur uji dilakukan dengan mencampurkan 2 mL larutan DPPH, 2 mL larutan sampel, dan 1 mL etanol p.a. dalam vial yang dilapisi aluminium foil untuk melindungi dari cahaya. Campuran dikocok hingga homogen dan didiamkan sesuai waktu inkubasi yang telah ditetapkan. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentase inhibisi aktivitas radikal bebas dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100 \quad (3)$$

Absorbansi blanko diperoleh dari campuran DPPH dan etanol, sedangkan absorbansi sampel merujuk pada campuran DPPH dengan masing-masing ekstrak serta fraksi n -heksana, etil asetat, dan air. Data dikumpulkan berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi yang diperoleh selama analisis kadar flavonoid dan pengujian aktivitas antioksidan. Setiap sampel dianalisis sebanyak tiga kali (triplo) untuk menjamin validitas serta konsistensi data yang dihasilkan. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi flavonoid dan persentase inhibisi radikal bebas, yang selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan pendekatan analisis varians satu arah (One-Way ANOVA) untuk menilai adanya perbedaan signifikan antar kelompok ekstrak dan fraksi. Metode ini dipilih guna mengevaluasi efektivitas relatif setiap fraksi terhadap kandungan flavonoid dan potensi aktivitas antioksidannya, sehingga dapat diidentifikasi fraksi dengan aktivitas biologis tertinggi [21].

3. Hasil

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen ekstrak, profil senyawa metabolit sekunder melalui uji skrining fitokimia, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun nilam dan tiga fraksi pelarutnya. Penyusunan hasil dilakukan berdasarkan urutan tahapan eksperimen yang sistematis.

Rendemen Ekstrak dan Karakterisasi Awal

Identifikasi tanaman nilam (*Pogostemon cablin*) telah divalidasi secara morfologis berdasarkan taksonomi C.A. Supporting & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. Dari 1200 g daun kering, diperoleh 1150 g serbuk simplisia dengan rendemen sebesar 95,83%, jauh melebihi batas minimal yang disyaratkan sebesar 10%. Kehilangan pengeringan tercatat sebesar $8,2 \pm 0,09\%$, masih berada dalam batas yang dapat diterima yaitu $\leq 10\%$ [19]. Ekstraksi menggunakan etanol 96% menghasilkan ekstrak kental dengan rendemen sebesar 21,0%, memenuhi standar minimal rendemen yang ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia ($\geq 20\%$) [22].

Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa aktif dalam ekstrak dan fraksi-fraksinya. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 1. Semua sampel menunjukkan keberadaan fenolik dan flavonoid, sementara senyawa alkaloid hanya terdeteksi pada fraksi tertentu. Hasil ini mendasari pemilihan fraksi untuk analisis flavonoid dan antioksidan lebih lanjut.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

Kandungan Senyawa Kimia	Reagen	Referensi	Hasil			
			Ekstrak	n-hexana	Etil Asetat	Air
Fenolik	FeCl ₃	Hitam [23]	Hijau kehitaman (+)	Hijau tua hitam (+)	Hitam (+)	Hitam Hijau (+)
Fenolik	Bubuk Mg + HCl pekat + amil alkohol	Merah Bata [23]	Bata merah coklat (+)	Kuning merah (+)	Merah jingga (+)	Oranye (+)
Tanin	FeCl ₃ ⁺ air panas	Hijau kehitaman atau biru kehitaman [24]	Hijau kehitaman (+)	Hijau kehitaman (+)	Hijau kehitaman (+)	Hijau kehitaman (+)
Saponin	Air panas + 2N HCl	Membentuk busa stabil ± 7 menit [24]	Tidak ada busa (-)	Tidak ada busa (-)	Membentuk busa yang stabil (+)	Membentuk busa yang stabil (+)
Alkaloid	Reagen Mayer	Sedimen putih [24]	Tidak ada sedimen (-)	Tidak ada sedimen (-)	Tidak ada sedimen (-)	Tidak ada sedimen (-)
	Reaksi Dragendorff	Sedimen oranye [24]	Sedimen oranye (+)	Tidak ada sedimen (-)	Tidak ada sedimen (-)	Sedimen oranye (+)
	Reaksi Bouchardat	Sedimen berwarna coklat kehitaman [25]	Sedimen Hijau Kehitaman (+)	Tidak ada sedimen (-)	Tidak ada sedimen (-)	Sedimen coklat (+)

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Tabel 2. Kandungan total flavonoid per fraksi

Sampel	Replikasi	Daya serap	% Total Kandungan Flavonoid	% Rata-rata Total Kandungan Flavonoid
Ekstrak	1	0,789	0,7977%	0,812±0,0126%
	2	0,793	0,8174%	
	3	0,795	0,8210%	
fraksi n-heksana	1	0,24	0,1432%	0,135±0,0080%
	2	0,234	0,1364%	
	3	0,237	0,1273%	
Fraksi Etil Asetat	1	0,392	1,6778%	1,615±0,0591%
	2	0,377	1,6097%	
	3	0,378	1,5602%	
Fraksi Air	1	0,217	0,6458%	0,652±0,0168%
	2	0,221	0,6713%	
	3	0,228	0,6396%	

Uji kandungan flavonoid dilakukan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Tabel 2 menunjukkan bahwa kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat (1,615 ± 0,0591%), diikuti oleh ekstrak etanol (0,812 ± 0,0126%), fraksi air (0,652 ± 0,0168%), dan fraksi n-heksana (0,135 ± 0,0080%). Hasil ini mencerminkan perbedaan polaritas pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi. Sebagai pelarut semi-polar, fraksi etil asetat memiliki kemampuan ekstraksi yang lebih optimal terhadap senyawa flavonoid jika dibandingkan dengan pelarut non-polar seperti *n*-heksana maupun pelarut polar seperti air [26]. Hal ini dapat dijelaskan berdasarkan karakteristik struktur kimia flavonoid yang umumnya mengandung gugus hidroksil dan cincin aromatik, menjadikannya bersifat semi-

polar. Oleh karena itu, pelarut semi-polar seperti etil asetat lebih kompatibel secara kimiawi dan mampu melarutkan flavonoid secara lebih efisien dibandingkan pelarut non-polar seperti n-heksana yang cenderung mengekstrak senyawa lipofilik, atau pelarut sangat polar seperti air yang kurang efektif melarutkan senyawa semi-polar [27]. Nilai standar deviasi yang relatif kecil pada masing-masing fraksi menunjukkan bahwa pengujian dilakukan secara konsisten dan dapat diandalkan.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji ini bertujuan mengevaluasi kemampuan masing-masing sampel dalam menetralkan radikal bebas. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi antioksidan tertinggi, dengan nilai IC_{50} sebesar 17,39 $\mu\text{g/mL}$ yang diklasifikasikan dalam kategori aktivitas sangat kuat. Selanjutnya adalah ekstrak etanol (36,73 ppm), fraksi air (71,95 ppm), dan fraksi n-heksana (99,60 ppm), sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil ini menunjukkan adanya hubungan antara kandungan flavonoid dan kemampuan menangkap radikal bebas [28]. Senyawa flavonoid diketahui berperan sebagai antioksidan dengan menyumbangkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas [29], [30].

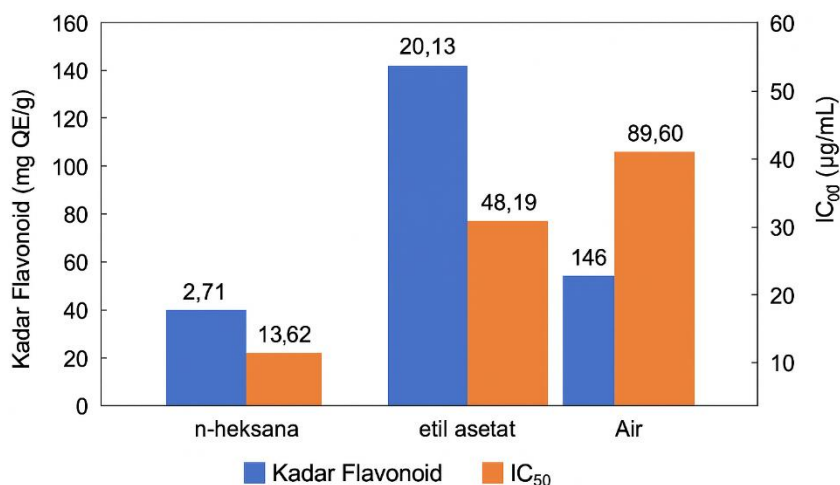
Tabel 3 merangkum hasil replikasi pengukuran IC_{50} dari masing-masing sampel, termasuk nilai koefisien korelasi (R) dari kurva kalibrasi yang seluruhnya berada di atas 0,99, menandakan bahwa data memiliki keandalan tinggi dan hubungan linier yang sangat baik antara konsentrasi dan daya inhibisi. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan klasifikasi umum: $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ = sangat kuat, 50–100 $\mu\text{g/mL}$ = kuat, 100–150 $\mu\text{g/mL}$ = sedang, dan $>150 \mu\text{g/mL}$ = lemah.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan (Nilai IC_{50})

Sampel	Replikasi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	R	Rata-rata $\pm IC_{50}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
Kuersetin	1	7,9515	0,9994	7,9338 $\pm$ 0,0267	Sangat kuat
	2	7,9467	0,9990		
	3	7,9031	0,9992		
Ekstrak	1	36,7842	0,9959	36,7350 $\pm$ 0,1217	Sangat kuat
	2	36,5963	0,9977		
	3	36,8245	0,9960		
fraksi n-heksana	1	99,4982	0,9615	99,5974 $\pm$ 0,1202	Kuat
	2	99,5629	0,9620		
	3	99,7311	0,9674		
Fraksi etil asetat	1	17,4641	0,9938	17,3909 $\pm$ 0,1327	Sangat kuat
	2	17,2496	0,9935		
	3	17,2213	0,9932		
Fraksi air	1	72,0405	0,9931	71,9534 $\pm$ 0,0758	Kuat
	2	71,9186	0,9918		
	3	71,9013	0,9901		

Visualisasi dan Korelasi Data

Korelasi antara kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 1, yang menyajikan perbandingan visual antara kadar flavonoid dan nilai IC_{50} dari masing-masing fraksi. Gambar 1 ini menunjukkan perbandingan kadar flavonoid (dalam mg QE/g) dan aktivitas antioksidan yang diukur berdasarkan nilai IC_{50} (dalam $\mu\text{g/mL}$) pada tiga fraksi ekstrak daun nilam: n-heksana, etil asetat, dan air. Fraksi etil asetat memiliki kadar flavonoid tertinggi (20,13 mg QE/g), sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh fraksi n-heksana, dengan nilai IC_{50} terendah sebesar 13,62 $\mu\text{g/mL}$, mengindikasikan potensi antioksidan yang kuat. Aktivitas ini berperan penting dalam menetralkan radikal bebas, sehingga berpotensi mencegah kerusakan oksidatif pada sel, mengurangi risiko penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit kardiovaskular [31], [32], [33]. Sebaliknya, fraksi n-heksana memiliki kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang paling rendah, menandakan rendahnya kandungan senyawa bioaktif [34]. Hasil ini menekankan efektivitas fraksinasi dalam memperkaya senyawa aktif, khususnya flavonoid, yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.



Gambar 1. Perbandingan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan (IC₅₀) pada berbagai fraksi ekstrak daun nilam

Analisis korelasi Pearson yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan hubungan negatif yang sangat signifikan antara kandungan flavonoid total dan aktivitas antioksidan (nilai IC₅₀), dengan koefisien korelasi sebesar $-0,903$ ($p < 0,01$). Hal ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi kadar flavonoid dalam suatu fraksi, maka nilai IC₅₀-nya semakin rendah, yang berarti aktivitas antioksidan semakin kuat [35].

Tabel 4. Korelasi antara kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan

Korelasi			
		Flavonoid Total	Antioksidan IC ₅₀
Flavonoid Total	Korelasi Pearson	1	$-,903^{**}$
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	12	12
Antioksidan IC ₅₀	Korelasi Pearson	$-,903^{**}$	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	12	12

****.** Korelasi signifikan pada level 0,01 (2-tailed).

Temuan ini memperkuat dugaan bahwa flavonoid merupakan kontributor utama terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak dan fraksi daun nilam. Hasil ini sejalan dengan studi sebelumnya oleh Karim et al. [23], yang juga melaporkan dominasi senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak daun nilam. Namun, kadar flavonoid dalam penelitian ini cenderung lebih tinggi, yang kemungkinan dipengaruhi oleh proses maserasi dan fraksinasi yang telah dioptimalkan. Nilai IC₅₀ yang diperoleh pun konsisten dengan temuan Putri [36], mendukung bukti kuat akan potensi antioksidan dari tanaman ini. Meskipun demikian, studi ini memiliki keterbatasan metodologis. Proses ekstraksi hanya menggunakan satu jenis pelarut (etanol) dan satu teknik (maserasi), yang berpotensi mengabaikan senyawa dengan polaritas ekstrem. Selain itu, pengujian aktivitas antioksidan terbatas pada metode DPPH saja tanpa konfirmasi silang menggunakan metode lain seperti *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) atau *Azino-Bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS). Faktor lingkungan seperti lokasi tumbuh, ketinggian, dan jenis tanah yang tidak dianalisis juga bisa memengaruhi komposisi kimia tanaman. Oleh karena itu, studi lanjutan sangat disarankan dengan pendekatan multi-metode (fitokimia dan bioaktivitas), penggunaan teknik analisis lanjutan seperti HPLC atau LC-MS, serta eksplorasi potensi sinergis dengan tanaman obat lain. Selain itu, studi in vivo dan pengembangan formulasi berbasis nano dapat membuka jalan bagi aplikasi terapeutik yang lebih efektif.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam kandungan total flavonoid antara ekstrak daun nilam dan masing-masing fraksi pelarutnya. Di antara semua fraksi, fraksi etil asetat mengandung flavonoid paling tinggi sebesar $1,615 \pm 0,0591\%$, diikuti oleh ekstrak etanol ($0,812 \pm 0,0126\%$), fraksi air ($0,652 \pm 0,0168\%$), dan fraksi n-heksana ($0,135 \pm 0,0080\%$). Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat,

dengan fraksi etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} terendah ($17,3909 \pm 0,1327 \mu\text{g/mL}$), yang menandakan aktivitas tertinggi. Adapun fraksi air dan n-heksana juga memperlihatkan aktivitas antioksidan yang kuat meskipun lebih rendah. Temuan ini memperkuat dugaan bahwa kandungan flavonoid, terutama dari fraksi semipolar seperti etil asetat, berkontribusi besar terhadap kapasitas antioksidan. Hubungan korelatif negatif yang signifikan antara kadar flavonoid dan nilai IC_{50} ($r = -0,903$; $p < 0,01$) memperjelas keterkaitan tersebut. Oleh karena itu, fraksi etil asetat memiliki potensi tinggi sebagai kandidat sumber antioksidan alami. Untuk mendukung pemanfaatannya, penelitian lanjutan direkomendasikan mencakup uji antioksidan tambahan seperti *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) atau *2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)* (ABTS), analisis senyawa aktif dengan teknologi lanjutan seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS), serta pengujian bioavailabilitas dan efektivitas terapeutik melalui studi *in vivo* dan pengembangan formulasi produk.

5. Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

- [1] H. Slika *et al.*, “Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms,” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 146, p. 112442, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.biopha.2021.112442.
- [2] E. Gerasimova, E. Gazizullina, E. Radosteva, and A. Ivanova, “Antioxidant and antiradical properties of some examples of flavonoids and coumarins—Potentiometric studies,” *Chemosensors*, vol. 9, no. 5, p. 112, May 2021, doi: 10.3390/chemosensors9050112.
- [3] L. Sukeksi, A. Destriadi, and K. Nicholas, “Pembuatan sabun transparan berbasis minyak kelapa dengan penambahan ekstrak buah pedada (*Sonneratia caseolaris*) sebagai bahan antioksidan,” *Jurnal Teknik Kimia USU*, vol. 13, no. 2, pp. 88–95, Sep. 2024, doi: 10.32734/jtk.v13i2.10283.
- [4] Y. K. Sari, R. Suharsanti, and W. Wulandari, “Comparison of ethyl acetate fractionation of ganitrie (*Elaeocarpus sphearicus*) seeds as anti bacterial of *Staphylococcus aureus* and determination of total flavonoid content,” *Journal of Health Management and Pharmacy Exploration*, vol. 2, no. 1, Feb. 2024, doi: 10.52465/johmpe.v2i1.291.
- [5] I. Sriyanti, L. Marlina, A. Fudholi, S. Marsela, and J. Jauhari, “Physicochemical properties and *in vitro* evaluation studies of polyvinylpyrrolidone/cellulose acetate composite nanofibres loaded with *Chromolaena odorata* (L) King extract,” *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 12, pp. 333–342, May 2021, doi: 10.1016/j.jmrt.2021.02.083.
- [6] C. Irawan, I. Dwi Putri, and M. Sukiman, “Antioxidant activity of DPPH, CUPRAC, and FRAP methods, as well as activity of alpha-glucosidase inhibiting enzymes from *Tinospora crispa* (L.) stem ultrasonic extract,” 2022.
- [7] G. Sanger, D. Wonggo, L. A. D. Y. Montolalu, and V. Dotulong, “Pigments constituents, phenolic content and antioxidant activity of brown seaweed *Sargassum* sp,” *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*, vol. 1033, no. 1, p. 012057, Jun. 2022, doi: 10.1088/1755-1315/1033/1/012057.
- [8] C. Cravotto *et al.*, “Towards substitution of hexane as extraction solvent of food products and ingredients with no regrets,” *Foods*, vol. 11, no. 21, p. 3412, Oct. 2022, doi: 10.3390/foods11213412.
- [9] S. Baliyan *et al.*, “Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*,” *Molecules*, vol. 27, no. 4, p. 1326, Feb. 2022, doi: 10.3390/molecules27041326.
- [10] A. Roy *et al.*, “Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications,” *Biomed Res Int*, vol. 2022, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.1155/2022/5445291.
- [11] H. Wulandari, R. Rohama, and P. V. Darsono, “Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) berdasarkan tingkatan fraksi,” *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 45–60, Nov. 2022, doi: 10.33859/jpcs.v3i1.210.
- [12] N. Zawawi *et al.*, “Establishing relationship between vitamins, total phenolic and total flavonoid content and antioxidant activities in various honey types,” *Molecules*, vol. 26, no. 15, p. 4399, Jul. 2021, doi: 10.3390/molecules26154399.
- [13] N. F. Dalimunthe, M. Thoriq Al Fath, Taslim, M. H. S. Ginting, Farah Nurul Alifia, and G. A. Berta, “Penentuan kadar flavonoid dan kandungan fitokimia ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L) dengan berbantuan microwave sebagai potensi bahan aktif tabir surya,” *Jurnal Teknik Kimia USU*, vol. 13, no. 2, pp. 131–137, Sep. 2024, doi: 10.32734/jtk.v13i2.16318.

- [14] B. Dechayont, P. Ruamdee, S. Poonnaimuang, K. Mokmued, and J. Chunthorng-Orn, “Antioxidant and antimicrobial activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.,” *J Bot*, vol. 2017, pp. 1–6, Mar. 2017, doi: 10.1155/2017/8310275.
- [15] M. Parcheta, R. Swislocka, S. Orzechowska, M. Akimowicz, R. Choinska, and W. Lewandowski, “Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties,” *Materials*, vol. 14, no. 8, p. 1984, Apr. 2021, doi: 10.3390/ma14081984.
- [16] D. Satriawan, M. Anggraeni, and G. Aghni Bintang Sukono, “Karakteristik bioadsorben limbah ikan dengan aktivator kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$),” *Jurnal Teknik Kimia USU*, vol. 14, no. 1, pp. 62–68, Mar. 2025, doi: 10.32734/jtk.v14i1.11543.
- [17] A. Baschieri and R. Amorati, “Methods to determine chain-breaking antioxidant activity of nanomaterials beyond DPPH•. A Review,” *Antioxidants*, vol. 10, no. 10, p. 1551, Sep. 2021, doi: 10.3390/antiox10101551.
- [18] N. N. W. Udayani, P. D. S. Wiguna, E. Cahyaningsih, and I. G. A. A. K. Wardani, “Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescens* (Blakely) Barlow) dengan pelarut n-heksan dan etanol,” *Jurnal Ilmiah Medicamento*, vol. 9, no. 2, pp. 150–157, Sep. 2023, doi: 10.36733/medicamento.v9i2.7136.
- [19] Kemenkes, *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi Ii 2022 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 615*, vol. 1. Ind f, 2022.
- [20] D. S. Aiyuba, A. N. Rakhmatullah, and R. Restapaty, “Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun ramania (*Bouea macrophylla* Griffith.) menggunakan metode DPPH,” *Jurnal Surya Medika*, vol. 9, no. 1, pp. 81–87, Apr. 2023, doi: 10.33084/jsm.v9i1.5150.
- [21] M. Faradilla, I. Fidrianny, and M. I. Iwo, “Antioxidant and immunomodulatory activities of ethanol extracts from *Syzygium cumini* L. Skeels and *Pogostemon cablin* Benth,” *Narra J*, vol. 4, no. 3, p. e918, 2024.
- [22] N. Isnaini *et al.*, “Potential of patchouli (*Pogostemon cablin*) and champaca (*Magnolia champaca*) oils incorporated in facial wash formulation for effective anti-aging on human skin,” *J. Pharm. Pharmacogn. Res*, vol. 13, pp. 459–474, 2025.
- [23] S. F. Karim, W. Wahyuni, and M. Mirnawati, “Formulasi dan uji aktivitas sediaan gel anti jerawat ekstrak daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis* dan *Propionibacterium Acnes*,” *Jambi Medical Journal: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, vol. 10, no. 2, pp. 257–271, 2022.
- [24] I. A. Putri, “Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% batang nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan metode DPPH,” 2023.
- [25] I. Sulistyarini, D. A. Sari, and T. A. Wicaksono, “Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (*Hylocereus polyrhizus*),” *Cendekia Eksakta*, vol. 5, no. 1, 2020.
- [26] F. Nurdyansyah and D. A. Widyastuti, “Comparison of antioxidant activity of ethanolic, methanolic, n-hexan, and aqueous extract of *Parkia speciosa* peel based on half-maximal inhibitory concentration through free radical inhibition,” *Advance Sustainable Science, Engineering and Technology*, vol. 2, no. 2, p. 343559, 2020.
- [27] P. Ionita, “The chemistry of DPPH• Free radical and congeners,” *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 4, p. 1545, Feb. 2021, doi: 10.3390/ijms22041545.
- [28] N. S. Besirik and G. Goger, “Antimicrobial evaluation of the patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) leaf essential oil combination with standard antimicrobial compounds,” *International Journal of Secondary Metabolite*, vol. 10, no. 3, pp. 385–393, Aug. 2023, doi: 10.21448/ijsm.1232606.
- [29] G. A. Engwa, F. N. Nweke, and B. N. Nkeh-Chungag, “Free radicals, oxidative stress-related diseases and antioxidant supplementation,” *Altern Ther Health Med*, vol. 28, no. 1, 2022.
- [30] A. Budzianowska, K. Banas, J. Budzianowski, and M. Kikowska, “Antioxidants to defend healthy and youthful skin—current trends and future directions in cosmetology,” *Applied Sciences*, vol. 15, no. 5, p. 2571, Feb. 2025, doi: 10.3390/app15052571.
- [31] S. Fatima *et al.*, “A comprehensive review on pharmacological activities of pachypodol: A bioactive compound of an aromatic medicinal plant *Pogostemon cablin* Benth,” *Molecules*, vol. 28, no. 8, p. 3469, 2023.
- [32] H. Soibam *et al.*, “Influence of organic nutrients on growth, yield and essential oil composition of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) under foothill conditions of Arunachal Pradesh, India,” *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 25, no. 3, pp. 657–665, 2022.

- [33] S. K. Pandey *et al.*, “Essential oil compositions, pharmacological importance and agro technological practices of Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): A review,” *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 24, no. 6, pp. 1212–1226, 2021.
- [34] L. Hssaini *et al.*, “Survey of phenolic acids, flavonoids and in vitro antioxidant potency between fig peels and pulps: chemical and chemometric approach,” *Molecules*, vol. 26, no. 9, p. 2574, 2021.
- [35] A. Niyazazari, V. Chalavi, and S. Kabirnataj, “Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on production of phenol, flavonoid and pigments of Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) callus,” 2021.
- [36] I. A. Putri, Mahfur “Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% batang nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode DPPH,” *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research*, vol. 1, no. 2, p. 1-16, 2023.