Research and Technology No: 105/E/KPT/2022 Available online at https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/jis

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg) Serta Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total

Febriana Wahyuningtyas¹⁾, Ibrahim Arifin²⁾, Khoirul Anwar^{3*)}

1,2,3)Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang Indonesia *Corresponding author: khoirula@unwahas.co.id

ABSTRAK

Kulit buah sukun (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg) memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa tersebut memiliki manfaat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah sukun dengan menggunakan metode ABTS (2,2- Azinobis (3- Ethylbenzothaizoline-6- Sulfonic Acid) serta menentukan kadar fenolik dan flavonoid total. Kulit buah sukun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode ABTS dan trolox sebagai pembanding, serta penentuan kadar fenolik dan flavonoid total menggunakan pembanding asam galat dan kuersetin dengan metode spektrofotometri UV-VIS. Hasil data absorbansi dianalisis secara regresi linier untuk mendapatkan nilai IC50. Kadar fenolik dan flavonoid total dinyatakan dengan mgGAE/gram ekstrak dan mgQE/gram ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol kulit buah sukun yang diekstraksi secara metode maserasi diperoleh nilai IC₅₀ 47,86±0,07 ppm, trolox IC₅₀ 20,17±0,06 ppm. Kadar fenolik dan flavonoid total diperoleh sebesar 280,70±2,54 mg GAE/gram dan 5,51±0,02 mgQE/gram ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah sukun dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat.

Kata kunci: antioksidan; fenolik; flavonoid; kulit buah sukun

Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Breadfruit Peel (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg) and Determination of Total Phenolic and Flavonoid Levels

ABSTRACT

Breadfruit peel (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg) contains phenolic compounds and flavonoids. These compounds have benefits as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanol extract of breadfruit peel by using the ABTS (2,2-Azinobis (3- Ethylbenzothaizoline-6- Sulfonic Acid) method and determining the total phenolic and flavonoid levels. The skin of breadfruit is extracted using a method with a 96% ethanol solvent. The results of the extract were tested for antioxidant activity by ABTS and trolox methods as a comparison, and the total phenolic and flavonoid levels were determined by comparing gallic acid and quercetin using UV-VIS spectrophotometry. The results of the absorbance data were analyzed by linear regression to obtain IC50 values. Total phenolic and flavonoid levels were expressed by mgGAE/gram extract and mgQE/gram extract. The



results showed that the extract ethanol of breadfruit peel extracted by maceration method obtained IC₅₀ 47.86±0.07 ppm, trolox IC₅₀ 20.17±0.06 ppm. The determination of the total phenolic and flavonoid levels was obtained as 280.70±2.54 mg GAE/gram and 5,51±0.02 mgQE/gram extract. Antioxidant activity of ethanol extract of breadfruit peel is categorized as a very powerful antioxidant.

Keywords: antioxidants; breadfruit peel; flavonoids; phenolics

(Article History: Received 16-09-2024; Accepted 11-11-2024; Published 08-02-2025)

PENDAHULUAN

Radikal bebas sangat reaktif pada kulit terluarnya mengandung molekul, gugus atau atom elektron satu atau lebih. Karena efek negatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas, tubuh membutuhkan antioksidan dari luar yang dapat menangkap dan menetralisir radikal bebas (Parwata, 2016). Gaya hidup yang kurang baik, seperti minum alkohol, merokok, polusi dari kendaraan bermotor, asap rokok dan terlalu banyak paparan sinar matahari menimbulkan pembentukan radikal bebas yang terlalu melimpah di tubuh. Radikal bebas merupakan pemicu yang dapat menyebabkan stress oksidatif serta penyakit degeneratif seperti kanker, dan penuaan dini (Yuslianti, 2018). Antioksidan merupakan salah satu senyawa dengan kemampuan menghambat atau memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh oksidasi (Sayuti & Yenrina, 2015).

Buah Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) merupakan tumbuhan yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan alami. Berdasarkan hasil penelitian (Marjoni, 2022), diperoleh bahwa kulit buah sukun mengandung senyawa fenolik dan flavonoid masingmasing sebesar 6277 mg/g dan 48174 mgQE/g. Berdasarkan penelitian Sukandar *et al.* (2013), ekstrak etanol buah sukun memiliki IC₅₀ sebesar 121,96 ppm. Wibowo *et al.* (2017), menyatakan bahwa aktivitas antioksidan melalui DPPH (2-2-*Diphenyl-1-Pickrylhydrazyl*) terhadap ekstrak etanol kulit buah sukun diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 57,430 ppm.

Theafelicia & Wulan (2023) menyatakan bahwa pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS lebih unggul dibandingkan metode DPPH dan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) karena metode ABTS lebih sensitif dari pada metode DPPH dan metode FRAP. Selain itu metode ABTS dapat bereaksi pada rentang pH asam sampai pH basa, metode ABTS juga menghasilkan absorbansi yang spesifik pada panjang gelombang yang terlihat serta memiliki waktu reaksi relatif lebih cepat. Metode ABTS dapat dilarutkan pada pelarut organik maupun air, sedangkan metode DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik (Karadag, 2009).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian tentang pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah sukun ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah sukun dengan metode ABTS serta penetapan kadar fenolik dan total flavonoid.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan dan pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu: etanol teknis 96%, aquadest, asam galat, kuersetin (Sigma), Na₂CO₃ 7%, Folin-Ciocalteu, etanol p.a, FeCl₃ 5%, AlCl₃ 10% (Merck), natrium asetat, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat,

ABTS (2,2- Azinobis (3- Ethylbenzothaizoline)-6- Sulfonic Acid) p.a (Merck), trolox (Sigma), dan kalium persulfat (K₂S₂O₈). Serbuk magnesium, amil alcohol, kalium asetat 1M (CH₃COOK).

Alat yang digunakan ialah: alat gelas (Iwaki Pyrex), seperangkat alat maserasi, mesin penyerbuk, timbangan elektrik (Henherr Scale), moisture balance (Ohaus), seperangkat vakum, corong buchner, almari pengering, penguap vakum putar (Heidolph), desikator, spektrofotometer UV-VIS 1800 (Shimadzu), dan mikropipet.

1. Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Fenolik

Ekstrak etanol kulit buah sukun ditimbang 50 mg dilarutkan menggunakan 10 mL etanol berkonsentrasi 96%. Ekstrak tersebut dituang ke tabung reaksi, lalu ditetesi 2 teter FeCl₃ 5%. Reaksi dalam tabung kemudian diamati. Perubahan warna menjadi biru, biru kehijauan, atau biru kehitaman adalah indikasi bahwa estrak tersebut mengandung fenolik (Anwar et al., 2022).

b. Identifikasi Flavonoid

Sejumlah 50 mg ekstrak setelah ditimbang, larutkan ekstrak etanol kulit buah sukun dalam 10 mL etanol 96%, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan beberapa serbuk magnesium dan 0,4 mL amil alkohol. Setelah itu HCl pekat ditambahkan melewati dinding tabung tetes demi tetes. Terbentuknya warna merah, jingga, atau kuning menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah sukun positif mengandung senyawa flavonoid (Anwar et al., 2022).

2. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Stok ABTS

Serbuk ABTS dan kalium persulfat 100 mg dan 165,6 mg ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam etanol p.a 25 mL dan dicampur dengan perbandingan 1:1. Larutan tersebut dibungkus dengan alumunium foil supaya terhindar dari sinar, diinkubasi di dalam ruangan gelap selama 12-16 jam sampai larutan tercampur sempurna (Anwar et al., 2022).

b. Pembuatan Larutan Induk Trolox

Larutan induk trolox ditimbang seksama 10 mg lalu dilarutkan masuk ke labu takar 10 mL dan ad etanol p.a. Untuk membuat konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm masing-masing dipipet sebanyak 1 mL. Kemudian, volumenya dicukupkan ke labu takar 5 mL sampai garis batas dengan etanol p.a. (Anwar et al., 2022).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan ABTS 1 mL dan trolox 1 mL konsentrasi 15 ppm masuk labu takar 5 mL, ad etanol p.a hingga tanda batas, ukur absorbansi larutan oleh spektrofotometer UV-VIS panjang gelombang rentang 600-800 nm, didapat 730 nm (Anwar et al., 2022).

d. Penentuan operating time

1 mL larutan trolox konsentrasi 15 ppm bersamaan 1 mL ABTS, waktu operating time diukur menit 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 dan 60. maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Waktu meredam radikal ABTS penghasil absorbansi paling stabil dan serapan tertinggi yaitu operating time sudah menunjukkan bereaksi sempurna, dan diperoleh pada menit ke 25, 30, dan 35 (Anwar et al., 2022).

e. Penyiapan Larutan Sampel

Pembuatan Larutan Stok Sampel 10.000 ppm

Timbang 1.000 mg ekstrak etanol kulit buah sukun dan masuk ke *beacker* gelas 50 mL. Kemudian *magnetic stirrer* kecepatan 300 rpm, larutan dilarutkan sempurna dalam 25 mL etanol p.a. Saring dengan kertas saring dan dimasukkan ke labu takar 100 mL, dicukupkan dengan etanol p.a sampai garis batas (Puspitasari et *al.*, 2019).

Pembuatan larutan stok sampel 1000 ppm

Larutan induk ekstrak etanol kulit buah sukun dengan konsentrasi 10.000 ppm diambil 1 mL, kemudian masuk labu takar 10 mL dan diberikan etanol p.a sampai tanda batas. Seri konsentrasi dibuat 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm, masing-masing volumenya dicukupkan dalam labu takar 5 mL menggunakan etanol p.a. (Puspitasari et *al.*, 2019).

f. Pengukuran Serapan Larutan ABTS

1 mL stok ABTS dipipet, lalu dimasukan 5 mL labu ukur penambahan air sampai tanda batas. Selanjutnya inkubasi larutan 15 menit serta pengukuran serapannya oleh spektrofotometer di panjang gelombang 730,6 nm (Saputri et *al.*, 2020).

g. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas Trolox

Kadar 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm larutan trolox diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 1 mL. Larutan diinkubasi pada tempat yang gelap selama *operating time*, pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal. Lakukan replikasi 3 kali. Konsentrasi antioksidan dihitung menggunakan rumus (Ulfah et *al.*, 2023).

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun

Larutan stok sampel ekstrak kulit buah sukun konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm, dipipet sebanyak 1 mL dan larutan stok ABTS ditambahkan 1 mL, dalam labu ukur 5 ml, dicukupkan etanol p.a sampai tanda batas. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-VIS, dilakukan 3 kali replikasi (Ulfah et *al.*, 2023).

3. Penetapan Kadar Fenolik Total dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi kandungan fenolik dan flavonoid pada ekstrak etanol kulit buah sukun *Artocarpus altilis* (Park.) Forsberg. Ekstrak etanol yang digunakan sama dengan ekstrak methanol kulit buah sukun dari penelitian Wibowo et *al.* (2017).

a. Pembuatan larutan Na₂CO₃ 7%

7 gram natrium karbonat ditimbang, ditambahkan kedalam labu takar 100 mL dan dilarutkan aquadest ad tanda batas (Puspitasari et *al.*, 2019).

b. Pembuatan larutan Induk Asam Galat 1000 ppm

10 mg ditimbang seksama asam galat, dilarutkan etanol p.a sampai larut, masukkan ke labu takar 10 mL, cukupkan menggunakan etanol p.a sampai tanda batas. 50, 100, 150, 200, 250, 300 ppm dalam 10 mL etanol p.a seri konsentrasi asam galat yang dibuat (Puspitasari et *al.*, 2019).

c. Penentuan panjang gelombang

Larutan seri konsentrasi 150 ppm dimikropipet 1500 µL dan dimasukkan ke tabung takar, ditambahkan Folin-Ciocalteau 400 µL selama 8 menit ditunggu, dan Na₂CO₃ 7% 4 mL ditambahkan kemudian dikocok sampai homogen. Absorbansinya dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 500-800 nm (Puspitasari et al., 2019).

d. Penentuan operating time

Penentuan ditentukan menggunakan larutan seri konsentarasi 150 ppm yang diambil sebanyak 200 µL dimasukkan ke dalam tabung takar dan Folin-Ciocalteau sebanyak 400 µL ditambahkan dalam 8 menit dibiarkan, kemudian Na₂CO₃ 7% 4 mL ditambahkan dan dikocok sampai homogen. Absorbansinya dibaca spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang maksimum didapat pada rentang waktu 0 – 180 sampai diperoleh serapan yang stabil. (Puspitasari et al., 2019).

e. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Larutan seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm diambil 200 µL dan dimasukkan ke tabung reaksi. Masing-masing konsentrasi ditambahkan Folin-Ciocalteu 400 μL dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu Na₂CO₃ 7% 4 mL ditambahkan. Panjang gelombang maksimum absorbansi dibaca. Replikasi dilakukan 3 kali (Puspitasari et al., 2019).

f. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak etanol kulit buah sukun dibuat konsentrasi induk 10.000 ppm dengan ditimbang seksama sebanyak 1000 mg, selanjutnya masukkan ke dalam backer glass dan 10 mL etanol p.a dilarutkan dengan kecepatan 300 rpm magnetic stirrer, kemudian saring dan dimasukkan kedalam labu takar 100 mL, dicukupkan etanol p.a sampai tanda batas (Puspitasari et al., 2019).

g. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun

Larutan stok ekstrak etanol kulit buah sukun diambil sebanyak 200 µL dan masuk tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan Folin-Ciocalteu 400 µL dibiarkan selama 8 menit, kemudian penambahan Na₂CO₃ 7% sebanyak 4 mL dan dikocok sampai homogen. Absorbansi dibaca menggunakan spektorfotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan menit ke-105, 120, dan 135 menit operating timenya. Replikasi dilakukan 3 kali (Puspitasari et al., 2019).

4. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dengan Spektrofotometer UV-VIS

a. Pembuatan Larutan AlCl₃ 10%

500 mg AlCl₃ diambil dan dilarutkan etanol p.a, kemudian masukkan ke dalam 5 mL dan dicukupkan sampai tanda batas (Puspitasari et al., 2019).

b. Pembuatan Kalium Asetat 1 M

500 mg kalium asetat diambil dilarutkan etanol p.a, kemudian ke dalam labu takar 5 mL dan ditambah etanol p.a sampai tanda batas (Puspitasari et al., 2019).

c. Penyiapan Larutan Kuersetin 400 ppm

Kuersetin sebanyak 20 mg ditimbang seksama dan larut etanol p.a 5 mL. Larutan dimasukkan ke labu takar 50 mL ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas (Puspitasari dan Wulandari, 2017). Kuersetin Konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dapat dibuat dalam 5 mL etanol p.a (Puspitasari et al., 2019).

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan sebagai pembandingnya kuersetin. Larutan seri konsentrasi pada kadar 6 ppm 1000 μL diambil, 200 μL AlCl₃ 10% dan 200 μL CH₃COOK 1M ditambahkan sampai terbentuk warna kuning. Baca pada spektrometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-500 nm (Puspitasari et *al.*, 2019).

e. Penentuan Operating Time

Menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan kuersetin yaitu pembanding. Konsentrai 6 ppm diambil 1000 μ L ditambah 200 μ L AlCl₃ 10% dan 200 μ L CH₃COOK 1M sampai terbentuk warna kuning. Baca spektrometer UV-Vis panjang gelombang 428,2 nm waktu ke-0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 (Puspitasari et *al.*, 2019).

5. Penetapan Kurva Baku Kuersetin

Larutan konsentrasi seri 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm masing-masing diambil 1000 μL dan AlCl₃ 10% 200 μL dan CH3COOK 1M 200 μL ditambahkan sampai terbentuk warna kuning. Larutan ditunggu selama *operating time* 30 menit, dibaca absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 428,2nm (Puspitasari et *al.*, 2019).

a. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak etanol dibuat konsentrasi induk 10.000 ppm dengan ditimbang seksama sebanyak 1000 mg, kemudian dimasukkan kedalam 50 mL *beacker glass* dan etanol p.a dilarutkan dengan kecepatan 300 rpm *magnetic stirrer* sampai terlarut sempurna. Saring kemudian dimasukkan labu takar 100 mL, dicukupkan sampai tanda batas. Lakukan replikasi 3 kali (Puspitasari & Sumantri, 2019).

b. Pengukuran Flavonoid Total

1000 μL larutan induk ekstrak etanol kulit buah sukun diambil, dan ditambahkan AlCl₃ 10% dan CH₃COOK 1M masing-masing 200 μL. Absorbansinya dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 428,2 nm dan ditunggu selama operating time 30 menit. Lakukan 3 kali perlakuan (Puspitasari et *al.*, 2019).

6. Analisis data

a. Menghitung % Inhibisi

Jumlah aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

% inhibisi = (abs blanko-abs sampel)/(abs blanko) \times 100%

Abs blanko = absorbansi ABTS

Abs sampel = absorbansi seri konsentrasi ekstrak etanol kulit buah sukun (Sami dan Rahimah., 2016).

Hasil dari perhitungan diperoleh hasil %, kemudian kurva konsentrasi (ppm) terhadap % kapasitas peredaman dibuat sehingga persamaan regresi linier y = bx + a, dimana x adalah konsentrasi, y adalah presentasi inibisi yang dihitung. Nilai IC₅₀ dicari agar dapat menentukan konsentrasi yang dibutuhkan untuk 50% kapasitas perendam (Setiawan et al., 2018).

b. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total

Nilai absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk menghitung total kadar fenolik dan flavonoid. Nilai ini diplotkan kemudian ke dalam persamaan kurva baku asam

 $Kadar fenolik dan flavonoid total = \frac{x \times Fp \times Volume Total Ekstrak}{Bobot penimbangan (gram) \times 1000} (mg/gram)$

Fp = Faktor pengenceran (Puspitasari et *al.*, 2017).

menggunakan rumus:

Keterangan:

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap awal dilakukan determinasi tanaman gunanya memastikan kebenaran tanaman penelitian ini, kesalahan pemilihan tanaman dapat dicegah. Hasil determinasi menunjukkan bahwa kulit buah sukun adalah bahan yang digunakan dalam penelitian.

Pemanenan buah sukun dilakukan pada sore hari dengan tujuan untuk memaksimalkan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman. Buah sukun dilakukan proses sortasi basah yaitu dengan memisahkan kulit dari buahnya. Buah sukun yang dipilih yaitu buah yang berwarna hijau tanpa lubang. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir. Tahap pertama pengeringan dilakukan dengan meniriskan kulit di tampah besar dengan kertas coklat hingga airnya hilang. Hal tersebut agar metabolit senyawa di bahan tidak rusak, metode lebih mudah dan hemat biaya.

Kulit buah sukun disortasi sebanyak 2.440 gram. Kulit buah sukun yang telah dicuci, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga diperoleh kulit buah sukun dengan kadar air ≤ 10%. Hal ini bertujuan untuk meminimalisir terjadinya pertumbuhan bakteri sehingga serbuk simplisia dapat disimpan dalam jangka panjang (Departemen Kesehatan RI, 2017). Setelah dikeringkan menggunakan oven diperoleh hasil simplisia sebesar 350 gram, dengan susut pengeringan sebesar 85,65%. Sebanyak 2,4% hasil kadar air serbuk kulit buah sukun memenuhi syarat mutu kadar air karena kadarnya <10%.

Dari hasil maserasi dari 325 gram serbuk kulit buah sukun diperoleh ekstrak kental sebanyak 60,7 gram. Ekstrak etanol kulit buah sukun kental memiliki warna hijau kehitaman dengan aroma yang khas kemudian ekstrak tersebut disimpan dalam wadah kaca yang sudah dilapisi dengan kertas coklat untuk menjaga kelembaban, kualitas serta mutu ekstrak tersebut. Rendemen ekstrak yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 17,34%.

Ekstrak etanol kulit buah sukun *Artocarpus altilis* (Park.) Forsberg menunjukkan hasil positif mengandung senyawa fenolik dan flavonoid, maka sesuai pada penelitian (Marjoni, 2022) yang menunjukan ekstrak methanol kulit buah sukun *Artocarpus altilis* (Park.) Forsberg mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak dapat ditemukan dengan menggunakan metode skrining fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan glikosida (Marjoni, 2022).

Berdasarkan Gambar 1 skrining fitokimia senyawa fenolik terjadi perubahan warna yang semula berwarna hijau kekuningan menjadi hijau kehitaman, oleh karena itu dinyatakan ekstrak etanol kulit buah sukun positif memiliki fenolik. Perubahan warna disebabkan gugus hidroksil terlibat dalam reaksi pereaksi FeCl₃ terdapat cincin aromatis dari senyawa fenol. Uji positif fenolik ditunjukkan dengan warna berubah menjadi hijau kehitaman, dikarenakan FeCl₃ bereaksi dengan gugus hidroksil sehingga terjadi perubahan warna menjadi lebih pekat (Haryati et *al.*, 2015). Pengujian senyawa flavonoid terjadi perubahan warna yang semula berwarna hijau kekuningan menjadi jingga,kuning, merah

pada lapisan amil alkohol, sehingga dapat dinyatakan ekstrak etanol kulit buah sukun positif mengandung flavonoid (Hasibuan et *al.*, 2020).

Skrining fitokimia	Sebelum	Sesudah	Keterangan
Fenolik	3,405	TENERAL TO STANKE TO STANK	Ekstrak etanol kulit buah sukun Positif fenolik
	Hijau kekuningan	Hijau kehitaman	
Flavonoid	Hijau kekuningan	Kuning dan jingga	Ekstrak etanol kulit buah sukun Positif flavonoid

Gambar 1. Hasil Skrining Fitokimia Fenolik dan Flavonoid

Ekstrak etanol kulit buah sukun metode ABTS digunakan untuk pengujian. Prinsipnya adalah menghilangkan ABTS warna kation, mengetahui berapa banyak antioksidan bereaksi dengan radikal bebas. Karakteristik yaitu berwarna yang mudah dirusak oleh antioksidan, dan ketika warnanya berubah menjadi tidak berwarna, menjadi non-radikal (Setiawan et *al.*, 2018).

Penggunaan metode ABTS untuk menguji aktivitas antioksidan membutuhkan reaksi oksidasi senyawa ABTS oleh kalium pesurfat (K₂S₂O₈) sehingga dapat terbentuk kation radikal ABTS (ABTS*+) sehingga dapat direaksikan antioksidan (Oliveira et *al.*, 2014). Trolox merupakan kontrol positif yang digunakan pada pengujian antioksidan, trolox sendiri merupakan analog dari vitamin E, mempunyai aktivitas antioksidan kuat (Setiawan et *al.*, 2018).

Penetapan panjang gelombang maksimum ABTS yaitu 730,6 nm nilai absorbansi 0,585. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal yang dihasilkan hampir identik dengan hasil penelitian yang lalu oleh (Puspitasari et al., 2019b). Panjang gelombang ABTS mencapai 730,6 nm dengan rentang 700–800 nm, sehingga dapat digunakan untuk proses pembacaan selanjutnya. *Operating time* yang diperoleh penelitian ini dimulai terjadi menit ke-25, 30 dan 35. Operating time pada penelitian ini mulai terjadi dari menit ke- 25 pada absorbansi absorbansi 0,584 nm.

Nilai IC $_{50}$ menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas ABTS. Nilai IC $_{50}$ dapat ditemukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dalam *Microsoft Excel*, di mana hasilnya y = bx + a, di mana y = 50 dan x = IC $_{50}$. Nilai IC $_{50}$ antioksidan sangat kuat <50 µg/mL, kuat antara 50 dan 100, dan sedang antara 100 dan 150 (Molyneux, 2004). Nilai IC $_{50}$ pembanding trolox dan ekstrak etanol kulit buah sukun diperoleh sebesar 20,17±0,06 µg/mL dan 47,86±0,07 µg/mL. Keduanya memiliki aktivitas antioksidan

dikatakan sangat kuat (< 50 ppm) karena kurang dari 50 ppm. IC₅₀ trolox dan ekstrak etanol kulit buah sukun (Tabel 1).

Tabel	1. IC ₅₀ Aktıvıtas	Antoksidan	Trolox d	an Sampel

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Kategori	
Trolox	$20,17\pm0,06~\mu g/mL$	Sangat kuat	
Sampel	$47,86\pm0,07~\mu g/mL$		

Kadar fenolik total ditetapkan oleh penelitian ini memakai metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai larutan standar (Alfian & Susanti, 2012). Merupakan turunan dari asam hidroksibenzoad, asam galat biasanya digunakan sebagai larutan standar termasuk golongan dari asam fenolik memiliki aktivitas antioksidan kuat juga sebagai standar yang ketersediaanya murni dan stabil (Rollando dan Monica, 2018). Hasil penetapan kadar fenolik total replikasi 1 abs sebesar 0,689, replikasi 2 0,686, replikasi 3 0,696 dengan pengenceran 10x di dapat Kadar fenolik gram sampel (mgGAE/gram) replikasi 1 280,04, replikasi 2 278,56, replikasi 3 283,51. Ekstrak etanol kulit buah sukun menunjukkan kadar fenolik total 280,70±2,54 mgGAE/gram.

Uji senyawa fenolik harus dalam suasan basa, sehingga pada larutan uji harus ditambahkan dengan Na2CO₃ 7% untuk membentuk suasana basa, sehingga dapat membentuk komplek warna biru. Pereaksi akan mengoksidasi fenolat yang terdapat pada Folin-Ciocalteau yang senyawa kompleks molybdenum-tungsten yang biru sehingga dibaca dengan metode spektrofotometer UV-Vis (Alfian & Susanti, 2012).

Pengukuran panjang gelombang penelitian ini diperoleh 745,5 nm. Hasil yang didapatkan hampir sama dengan hasil panjang gelombang dari penelitian Yumni et al. (2022), yang mendapatkan hasil pengukuran panjang gelombang sebesar 745 nm pada rentang 400 – 800, sehingga panjang gelombang pada penelitian ini dapat digunakan sebangai pengukuran absorbansi sampel ekstrak etanol kulit buah sukun menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Operating time diperoleh dari penelitian ini pada menit ke-105, 120, 135 dengan nilai absorbansi sebesar 0,455. Hasil tersebut menyatakan bahwa asam galat, pereaksi Folin-Ciocalteu dan Na₂CO₃ membutuhkan waktu sebanyak 105, 120, 135 menit untuk bereaksi secara optimal.

Penetapan kurva baku asam galat dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, serta persamaan regresi liner digunakan menghitung kadar dari fenolik terkandung diekstrak etanol kulit buah sukun. Konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm. Penentuan konsentrasi pada kurva baku ini berdasarkan pada hukum lambert beer yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi nilai absorbansinya. Hukum Lamber Beer memiliki syarat dari nilai serapan yaitu sebesar 0,2 - 0,8 menghindari terjadinya kesalahan fotometrik (Suhartati, 2017).

Kurva baku asam galat ditentukan dengan regresi linier dibuat replikasi sebanyak 3 kali. Replikasi yang digunakan dalam penetapan kurva baku untuk penetapan kadar fenolik yaitu replikasi 3 dengan persamaan regresi linier yang diperoleh adalah Y = 0,00201X+0,1247 dimana koefisien korelasi (r) memiliki nilai 0,9998 paling dekat angka 1. Nilai r mendekati 1 dapat menunjukkan bahwa kurva baku berhubungan kuat antara konsentrasi dan nilai absorbansi dimana y merupakan absorbansi dari sampel dan x sebagai konsentrasi sampel yang dinyatakan dalam ppm.

Mengukur panjang gelombang maksimum larutan 100 μ L kuersetin diambil, ditambahkan dengan AlCl₃ 10% 200 μ L dan kalium asetat 1M sebanyak 200 μ L sehingga terbentuk warna kuning, Selanjutnya, spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 400-500 nm digunakan untuk mengukur serapannya larutan (Puspitasari et *al.*, 2019). Hasil pengukuran didapatkan sebesar 428,2 nm, nilai absorbansi sebesar 0,450. Sehingga panjang gelombang tersebut dapat digunakan sebagai pembacaan absorbansi sampel ekstrak kulit buah sukun dengan spektrofotometri UV-Vis.

Operating time dipergunakan mengetahui waktu digunakan larutan kuersetin dan AlCl₃ bereaksi secara stabil yang ditandai tidak ada penurunan nilai absorbansi. Pembacaan operating time mempergunakan kurva baku kuersetin pada konsentrasi 6 ppm panjang gelombang 428,2 nm dengan waktu 0-60 menit dan rentang pengukuran setiap 5 menit sekali. Operating time dalam penelitian ini adalah waktu menit ke-30 dengan absorbansi 0.323 nm.

Kurva baku dibuat dengan tujuan berikut mengetahui total kadar flavonoid dalam sampel, yang dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier (Gandjar dan Rohman, 2007). Pembuatan kurva baku didasarkan pada hukum Lambert beer yang menyatakan bahawa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi nilai absorbansi, hukum lamber beer memiliki syarat nilai serapan yaitu sebebsar 0,2-0,8 untuk mengurangi terjadinya kesalahan fotometrik (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Persamaan regeresi liner pada kurva baku kuarsetin sebesar y = 0.0505x + 0.1203 dengan nilai koefisisen korelasi r sebesar 0,9997 dimana nilai x diartikan konsentrasi dari sampel dalam ppm sedangakan y merupakan absorbansi. Nilai r yang digunakan yaitu nilai r yang mendekati 1 yang dapat diartikan bahwa kurva baku tersebut mempunyai hubungan yang kuat anatar absorbansi dengan nilai konsentarsi kuersetin.

AlCl₃ digunakan untuk menghitung total kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kulit buah sukun dengan menggunakan kuersetin sebagai pembanding karena kuersetin adalah flavonoid dari kelompok flavonol yang memiliki gugus keton C-4 dan gugus hidroksil dengan atom C-3 atau C-5 yang hampir identik dengan flavon dan flavonol (Azizah et *al.*, 2014).

Pengukuran kadar flavonoid menggunakan 10% AlCl₃. AlCl₃ membentuk warna kompleks, yang mengubah panjang gelombang diarahkan visible (tampak). Setelah itu, sampel ditambahkan dengan CH₃COOK 1M, yang menstabilkan pembentukan warna kompleks antara flavonoid dan AlCl₃ dan mengekalkan jangkauan panjang gelombang di daerah visible.(Lindawati dan Ma'ruf, 2020). Kemudian dilakukan pengukuran serapan dengan mengggunakan spektrofotometer UV-Vis. Replikasi 1 abs sebesar 0,676, replikasi 2 0,680, replikasi 3 0,677 dengan pengenceran 5x di dapat Kadar flavonoid gram sampel (mgQE/gram) replikasi 1 280,04, replikasi 2 278,56, replikasi 3 283,51. Penetapan kadar senyawa flavonoid total ekstrakk etanol kulit buah sukun sebesar 5,51± 0,02 mgQE/gram.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit buah sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat, nilai IC₅₀ antioksidan

sangat kuat <50 μg/mL, kuat antara 50 dan 100, dan sedang antara 100 dan 150. Ekstrak etanol kulit buah sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) memiliki kadar fenolik total dan kadar flavonoid total.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R. & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. Pharmaciana, 2(1), 73-79.
- Anwar, K., Lokana, F.M. & Budiarti, A. (2022). Antioxidant Activity of Dewandaru Leaf (Eugenia Uniflora L.) Ethanol Extract and Determination of Total Flavonoid and Phenolic Content. Jurnal Ilmiah Sains, 22(2), 161–171.
- Asmorowati, H. & Lindawati, N.Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (Persea americana Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri. Jurnal Ilmiah Farmasi, 15(2), 51-63.
- Azizah, D.N., Kumolowati, E. & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode Alcl3 Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.). Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi, 2(2), 45–49.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua, Jakarta, Ditjen POM RI, 528.
- Gandjar, G. H. & Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Haryati, N. A., Saleh, C. & Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (Syzygium myrtifolium Walp .) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Jurnal Kimia Mulawarman, 3(1), 35-40.
- Hasibuan, A.S., Edrianto, V. & Purba, N. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Farmasi*, 2(2), 45-49.
- Karadag, A., Ozcelik, B. & Saner, S. (2020). Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods.
- Lindawati, N. Y. & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (Phaseolus vulgaris L.) Secara Spektrofotometri Visibel. Jurnal Ilmiah Manuntung, 6(1), 83.
- Marjoni, M. R. (2022). Monografi Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Sukun (Artocarpus altilis). Sleman, CV, Resistasi Pustaka, 1-73.
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Dyhenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. Journals Science and Technology, 26, 211-219.
- Oliveiraa, S., Glalci, A.S., Camila, R.E, Thuany, A.S., Edmar, S., Oriana, A.F., Marcelo, J., pena, F. & Paulete, R. (2014). Evaluation of Antiradical Assays Used in Determining The Antioxidant Capacity of pure compounds and Plant Extracts. Artigo, 37(3), 497-
- Parwata, I.M.O.A. (2016). Bahan Ajar Antioksidan. Universitas Udayana, 4-8.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F.F. & Faizah, N.G.A. (2019). Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-heksan Daun Petai (Parkia speciosa Hassk). Jurnal Ilmiah Teknosains, 5(1), 1-8.

- Puspitasari, A.D., Susanti, E. & Khustiana, A. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus limon* (**L.**) Osbeck) Menggunakan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(2), 99-104.
- Puspitasari, A.D. & Sumantri. (2019b). Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) menggunakan Metode ABTS. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23(2), 48-51.
- Rollando, R. & Monica, E. (2018). Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak. *Jurnal Permata Indonesia*, 8(2), 12-25.
- Safitri, I., Nuria, M.C. & Puspitasari, A.D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) Pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Inovasi Teknik Kimia*, 3(1), 31-36.
- Saputri, P.A., Agustina. A. & Fatmaria. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminate x Musa balbisiana* (ABB *cv*)) Dengan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) Pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran*, 8(1), 973–980.
- Sayuti, K. & Yenrina, R. (2015). Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- Setiawan, F., Yunita, O. & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89.
- Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Organik. Anugrah Utama Raharja, 1-99.
- Theafelicia, Z. & Wulan, S.N. (2023). Comparison of Various Methods for Testing Antioxidant Activity (DPPH, ABTS, and FRAP) on Black Tea (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35-44.
- Ulfah, M., Sethyana, F. & Anam, S.A.F. (2023). Potensi Antioksidan dan Kadar Total Fenolik Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amarillyfolius Roxb*) pada Variasi Pelarut. *Media Farmasi Indonesia*, 18(2), 115–123.
- Wibowo, A.N., Suwendar. & Fitrianingsih, P.S. (2017). Evaluasi Potensi Aktivitas Antioksidan Alami dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) Secara In Vitro. *Prosiding Farmasi*, 3(1), 6-13.
- Widiyana, P.A. (2021). Validasi dari Spektrofotometri UV-Vis dan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Etanol dari Akar Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dan Daun Pegagan (*Centella asiatica*). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 3(2), 126-136.
- Yumni, G.G., Sumantri., Nuraini, I.W. & Nafis, I. J. (2022). Profil Antioksidan Dan Kadar Flavonoid Total Fraksi Air Dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 7(1), 12-17.
- Yuslianti, E. R., 2018, Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan, Penerbit Deepublish, Yogyakarta.