

**Flavonoid Total Dan
Antioksidan Ekstrak Etanol
Dan Fraksi Batang Waru
(*Hibiscus tiliaceus* L.) Metode
ABTS⁺**

**Rosi Neng Alfa Siska¹⁾ |
Kusumaningtyas Siwi Artini²⁾ |
Danang Raharjo³⁾**

1) 2) 3) Universitas Duta Bangsa
Surakarta

ABSTRAK

Radikal bebas adalah bentuk senyawa oksigen reaktif yang reaktivitasnya dapat mengakibatkan kerusakan sel tubuh dan memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif. Antioksidan dibutuhkan untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan karena dilaporkan memiliki kandungan alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Informasi mengenai batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) tidak banyak ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.). Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri AlCl₃ dan pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS⁺. Hasil dari penelitian ini didapatkan kadar flavonoid total ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebesar 12,619 ± 0.19838 mg QE/g. Aktivitas antioksidan terbaik didapatkan pada fraksi etil asetat batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan nilai IC₅₀ 18.198 ppm. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat

termasuk kategori sangat kuat karena IC₅₀ kurang dari 50 ppm.

Kata kunci : ABTS⁺, antioksidan, batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), flavonoid total

ABSTRACT

*Free radicals are forms of reactive oxygen compounds whose reactivity can cause damage to body cells and trigger the emergence of various degenerative diseases. Antioxidants are needed to protect the body from free radical attack. Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) is a plant that has the potential as an antioxidant because it is reported to contain alkaloids, phenolics, flavonoids, saponins, and terpenoids. The information about the stems of hibiscus (*Hibiscus tiliaceus* L.) is not widely available. Therefore, this study aimed to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol extract and fraction of waru stem (*Hibiscus tiliaceus* L.). The determination of total flavonoid content was carried out using calorimetry method and the antioxidant activity testing was carried out using the ABTS⁺ method. The results of this study showed that the total flavonoid content of the ethanol extract of the hibiscus stem (*Hibiscus tiliaceus* L.) was 12.619 ± 0.19838 mg QE/g. The best antioxidant activity was found in the ethyl acetate fraction of waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) stems with an IC₅₀ value of 18.198 ppm. The antioxidant activity of the ethyl acetate fraction was categorized as very strong because the IC₅₀ was less than 50 ppm.*

Keyword: ABTS⁺, antioxidants, total flavonoids, hibiscus stem (*Hibiscus tiliaceus* L)

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah bentuk senyawa oksigen reaktif yang diketahui merupakan senyawa yang memiliki elektron bebas atau tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Elektron yang tidak berpasangan ini akan mencari pasangan baru sehingga akan mudah berikatan dengan zat lain seperti protein, lemak, dan DNA di dalam tubuh (Winarti, 2010). Hal ini akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak dapat dikendalikan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Kerusakan sel akibat reaktivitas senyawa radikal bebas menjadi awal munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, penyakit respiratorik, katarak, liver, dan aging (Meydani, 2000).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga, kegiatan senyawa oksidan bisa dihambat (Zulaikhah, 2017). Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.). Tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) merupakan tumbuhan tropis tersebar di seluruh kepulauan nusantara. Kandungan fitokimia tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) yang dilaporkan adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan terpenoid (Rawool dan Parulekar, 2019).

Wong *et al* (2016) menyatakan bahwa bagian dari tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) seperti daun, bunga, dan kayu memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, antidiabetik, dan hipolipid. Penelitian lain

menyebutkan bahwa pada evaluasi farmakologi ekstrak daun dan kulit batang tumbuhan waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik, analgesik, dan neurofarmakologis. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder berbeda dalam ekstrak tumbuhan dan beberapa dari senyawa ini diduga memiliki fungsi yang sinergis (Abdul-Awal *et al*, 2016).

Berdasarkan penelitian tersebut, mendorong peneliti untuk mengkaji lebih lanjut mengenai potensi antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan metode ABTS⁺. Selain itu juga menetapkan kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Kimia Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) yang diambil dari Dukuh Titang, Desa Towangsan, Kecamatan Gantiwarno Kabupaten Klaten, Provinsi Jawa Tengah.

Alat dan Bahan

Neraca digital (Pioneer dan gree scale), oven (Binder), *rotary evaporator* (Buchi R14), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 50), serbuk batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), kuersetin (Sigma Aldrich), metanol p.a (Merck), etanol 96%, aquadest, etil asetat, *n*-heksan, serbuk ABTS (Sigma Aldrich), K₂S₂O₈ (Merck), natrium asetat (Merck).

Ekstraksi Serbuk Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

Ekstraksi batang waru menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan beberapa kali pengadukan kemudian disaring. Ampas diremaserasi selama 2 hari dengan 2 kali pengulangan. Maserat yang didapatkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 – 60°C dan diuapkan dengan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental.

Fraksinasi Ekstrak Etanol Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

Ekstrak kental sebanyak 10 g dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 150 mL, bila ekstrak tidak larut maka dapat dibantu dengan penambahan etanol, setelah larut kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fraksinasi pertama dengan penambahan *n*-heksan sebanyak 150 mL kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan *aquadest* di bawah dan lapisan *n*-heksan di atas), lalu diambil lapisan *n*-heksan (replikasi 3 kali). Fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan penambahan etil asetat sebanyak 150 mL ke dalam lapisan kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan *aquadest* di bawah dan lapisan etil asetat di atas), lalu diambil lapisan *n*-heksan (replikasi 3 kali). Fraksi etanol air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan di atas *water bath*. (Maravirnadita, 2019).

Penetapan Kadar Flavonoid

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan kuersetin 20 ppm ditambah dengan 1 mL larutan 1 mL

larutan AlCl₃ 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan *running* larutan kuersetin pada *range* panjang gelombang 400-450 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol batang waru (Aminah *et al*, 2017).

b. Penentuan Operating Time (OT)

Diambil sebanyak 1 mL larutan kuersetin 20 ppm kemudian ditambah dengan 1 mL larutan AlCl₃ 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. *Operating Time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Indrayani, 2008).

c. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Diambil larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan 1 mL natrium asetat 1M. Sampel diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Aminah *et al*, 2017).

d. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam

10 mL etanol, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL natrium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama waktu *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah *et al*, 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS^{•+}

a. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan ABTS^{•+} dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan PBS pH 7,4 hingga 25 mL. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700-750 nm, ditentukan panjang gelombang saat diperoleh serapan tertinggi (Ulfah, 2018).

b. Penentuan *Operating Time* (OT)

Larutan baku kerja kuersetin 15 ppm dipipet 0,1 mL kemudian ditambah 2 mL larutan ABTS^{•+}. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 1 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Yam *et al*, 2008).

c. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Baku Perbandingan Kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25

ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 mL larutan baku kerja ditambah 2 mL larutan ABTS^{•+}, larutan diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Wardani, 2020)

d. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Blanko

Larutan ABTS^{•+} sebanyak 1 mL ditambahkan 2 mL PBS pH 7,4, diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama waktu *operating time* dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Ulfah, 2018).

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel (Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol Air, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi n-heksan Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.))

Larutan sampel dengan konsentrasi 10,20,30,40, dan 50 ppm masing-masing dipipet sebanyak 0,1 mL kemudian ditambah 2 mL larutan ABTS^{•+}, larutan selanjutnya diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, dilakukan replikasi 3 kali (Faisal, 2019).

Analisa Data

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dimasukkan ke dalam regresi linier. Absorbansi sampel sebagai y, sehingga kadar flavonoid total yang diperoleh dinyatakan sebagai jumlah mg ekuivalen kuersetin (QE) pada tiap

gram sampel. Perhitungan kadar flavonoid total dihitung dengan rumus di bawah ini (Mukhriani *et al*, 2019).

$$\text{flavonoid total} = \frac{\text{konsentrasi } \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times v}{\text{berat sampel}} \times Fp$$

Pengukuran persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus (Cholisoh dan Utami, 2008) :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = bx + a$, digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh dari IC_{50} (Rahmayani *et al*, 2013).

$$y = bx + a$$

$$50 = bx + a$$

$$y = \frac{50-a}{b} = IC_{50}$$

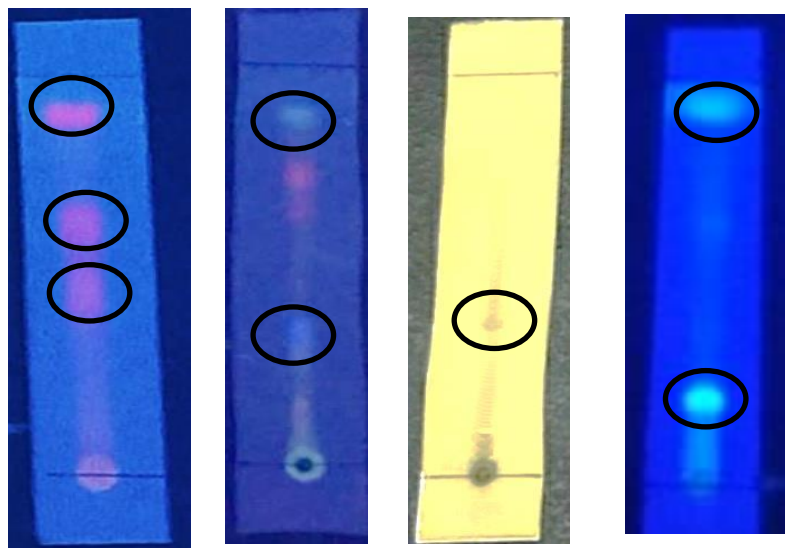
HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

a. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

Tabel 1. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

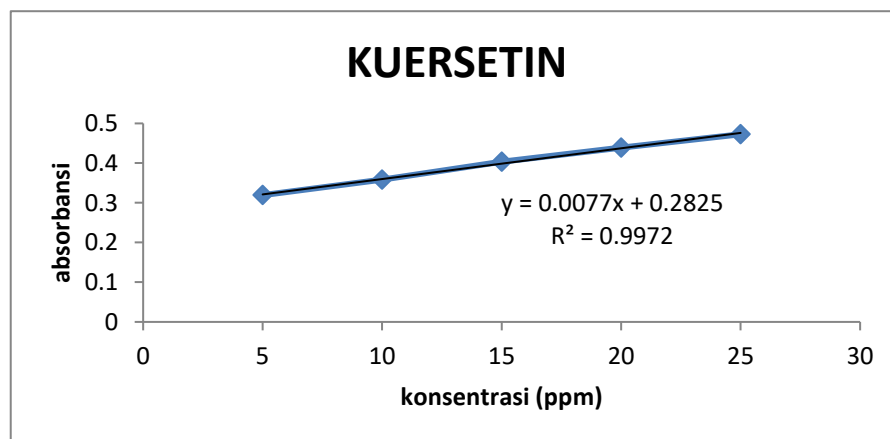
Kandungan Kimia	Pereaksi	Keterangan
Alkaloid	Mayer	+
	Dragendrof	+
Flavonoid	Serbuk mg dan HCl pekat	+
Saponin	Aquadest + HCl 1N	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	+
Steroid/terpenoid	Lieberman Burchard	+



(a) (b) (c) (d)

Gambar 1. Hasil KLT Skrining Fitokimia (eluen *n*-heksan : Etil Asetat (5:5)) (a) Alkaloid (dragendorff, 366 nm), (b) Flavonoid (sitroborat, 366 nm), (c) Tanin (FeCl₃, sinar tampak), (d) Steroid (*Lieberman-burchard*, 366 nm)

b. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)



Gambar 2. Persamaan Kurva Baku Kuersetin

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Ekstrak Etanol Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

Sampel	Abs	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	Rata-Rata ± SD
Replikasi 1	0.381	12.792	12.619 ± 0.19838
Replikasi 2	0.378	12.403	
Replikasi 3	0.380	12.662	

c. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS^{•+}

Tabel 3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Metode ABTS^{•+}

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Kuersetin	4,931
Ekstrak Etanol	99,303
Fraksi Etanol Air	22,011
Fraksi <i>n</i> -heksan	102,984
Fraksi Etil Asetat	18,198

PEMBAHASAN

Serbuk batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L) diekstraksi dengan metode maserasi karena prosesnya sederhana sehingga mudah dilakukan. metode maserasi tidak dilakukan pemanasan sehingga zat aktif yang terkandung dalam batang waru yang tidak tahan panas akan tetap stabil tidak menjadi terurai (Istiqomah, 2013).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) adalah sebesar 3,94%. Penelitian Tambe dan Bhambar (2014), dilakukan ekstraksi dengan metode sokletasi pada kayu waru menggunakan pelarut etil asetat, eter dan metanol masing-masing diperoleh rendemen ekstrak sebesar 3,5%;9,3%; dan 6,8%. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) relatif kecil, hal ini diduga karena kayu waru lebih banyak mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin (Sutrisno, 2011). Selain itu, besar kecilnya rendemen suatu ekstrak juga dapat dipengaruhi oleh keefektifan dalam metode ekstraksi (Libo dan Variegate, 2015).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), skrining fitokimia pada penelitian ini digunakan 2 metode yaitu metode tabung dan KLT. Berdasarkan kedua metode skrining fitokimia yang telah dilakukan diketahui ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) mengandung golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Dalam melakukan KLT perlu

dilakukan optimasi fase gerak (eluen). Hasil optimasi fase gerak didapatkan campuran eluen *n*-heksan : Etil Asetat 5 : 5 Hasil skrining fitokimia dapat dilihat di tabel 1 dan gambar 1.

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$. Prinsip penetapan kadar flavonoid total menggunakan aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Hal ini juga akan membentuk kompleks asam labil dengan hidroksil dalam posisi orto pada cincin B flavonoid sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi kuning setelah penambahan natrium asetat (Sembiring *et al*, 2018). Penambahan natrium asetat pada penetapan kadar flavonoid dimaksudkan sebagai pereaksi geser dan untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH, selain itu juga untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (Suwartini *et al*, 2021). Kuersetin digunakan sebagai larutan standar dalam penetapan kadar flavonoid kuersetin merupakan flavonoid yang mempunyai reaktivitas tinggi dibandingkan rutin, daflon, diosmin dan morin (Dewi *et al*, 2018). Sebelum dilakukan penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), terlebih dahulu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum *operating time* dan pembuatan kurva baku kuersetin.

Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum kuersetin yang diperoleh

adalah 440 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian Vetiveria *et al* (2022), dilakukan penelitian kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol herba akar wangi menggunakan standar kuersetin, panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 440 nm. Hasil penentuan *operating* didapatkan nilai absorbansi yang stabil pada menit ke 10-14. Hal ini menandakan bahwa pada menit ke 10-14 senyawa flavonoid telah selesai bereaksi dengan pereaksi $AlCl_3$ yang ditandai dengan pembacaan nilai absorbansi stabil di angka 0,425. Pada penentuan kurva baku kuersetin didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,0077x + 0,2825$ dengan nilai koefisien korelasi (r^2) = 0,9972 (gambar 2).

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan memasukkan absorbansi yang dihasilkan ke dalam persamaan kurva kuersetin sebagai sumbu y. Hasil pengukuran menunjukkan ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) mengandung flavonoid total 12.619 ± 0.19838 mg QE/g. Hasil pengukuran kadar flavonoid total dapat dilihat dalam tabel 2.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini digunakan metode $ABTS^{+}$ yang kemudian diukur serapannya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Metode $ABTS^{+}$ dipilih karena waktu reaksi ABTS dengan antioksidan lebih cepat, ABTS juga dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik, selain itu ABTS mampu memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang visible (Jatmiko dan Mursiti, 2021). Prinsip pengujian dengan metode

$ABTS^{+}$ adalah mengukur daya peredaman antioksidan terhadap radikal bebas $ABTS$. Pengujian $ABTS$ berdasarkan pada generasi $ABTS^{+}$ biru/hijau yang dapat direduksi oleh antioksidan. Flavonoid bereaksi dengan kation $ABTS^{+}$ membentuk $ABTS$ radikal yang lebih stabil atau senyawa bukan radikal. Dalam hal ini terjadi oksidasi radikal yang mana intensitas warna berkurang karena direduksi oleh molekul $ABTS$ dan terjadi perubahan warna menjadi hijau-biru. Antioksidan seperti flavonoid menekan pembentukan warna karena terjadi reduksi $ABTS^{+}$ sehingga terjadi penurunan absorbansi (Vifta dan Advistasari, 2019). Pada pengujian antioksidan dengan metode $ABTS^{+}$ ini kalium persulfat ($K_2S_2O_8$) digunakan untuk mengoksidasi $ABTS$ menjadi radikal $ABTS$ yang stabil untuk uji. Perlakuan inkubasi selama 6-12 jam dilakukan untuk membentuk warna radikal $ABTS$ yang stabil (Mingle dan Newsome, 2020). Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel, terlebih dahulu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum dan *operating time*.

Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dan *operating time* diperoleh panjang gelombang maksimum $ABTS^{+}$ 740 nm yang memiliki absorbansi 0,435. Hasil ini sama dengan penelitian Vifta dan Advistasari (2019), dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum $ABTS$ dan didapatkan panjang gelombang maksimum 740,20 nm. Hasil penentuan *operating time* menunjukkan bahwa nilai absorbansi yang stabil adalah pada menit ke 24-28.

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan terhadap pada sampel

menunjukkan hasil ekstrak etanol diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 99.303 ppm, fraksi etanol air diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 22.011 ppm, fraksi etil asetat diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 18.198 ppm dan fraksi *n*-heksan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 102.984 ppm. Dari hasil pengujian menunjukkan fraksi etil asetat mempunyai nilai IC₅₀ terendah yaitu 18.198 ppm akan tetapi apabila dibandingkan dengan kuersetin sebagai baku pembanding, kuersetin memiliki nilai IC₅₀ yang lebih rendah yaitu sebesar 4.931 ppm. Berdasarkan tabel sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat yaitu < 50 ppm (Yumni *et al*, 2021). Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat diduga karena memiliki kandungan senyawa flavonoid dan fenolik paling polar. Hasil pengukuran antioksidan dapat dilihat dalam tabel 3.

SIMPULAN

Ekstrak etanol batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) memiliki kadar flavonoid total sebesar 12.619 ± 0.19838 mg QE/g. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol dan fraksi batang waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,198 ppm.

PUSTAKA ACUAN

Aminah, A., Tomayahu, N. and Abidin, Z. (2017)

‘Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis’, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), pp. 226–230.

Dewi, S., Nailly, U. and Bambang, D. A. (2018) ‘Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*’, *Jurnal Rona Teknik Pertanian*, 11(1), pp. 1–11.

Faisal, H. (2019) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS’, *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2 (1), pp. 1–5.

Indrayani, S. (2008) ‘Validasi Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Sediaan Krim Secara *Kolorimetri* dengan Pereaksi AlCl₃’, *Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma*.

Jatmiko, M. P. and Mursiti, S. (2021) ‘Isolation , Identification , and Activity Test of Flavonoid Compounds in Jamblang Leaves (*Syzygium cumini* L.) Skeel as *Antioxidants*’, *Indonesian Journal of Chemical Science*, 10(2), pp. 129–138.

Libo, T. and Variegate, F. (2015) ‘Optimalisasi ekstraksi dan uji metabolit *sekunder*

- tumbuhan libo', *J. Trop. Pharm. Chem*, 3(2), pp. 74–81.
- Maravirnadita, A. H. (2019) *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola) dengan Metode DPPH*, Skripsi. Universitas Ahmad Dahlan.
- Mingle, C. E. and Newsome, A. L. (2020) 'An amended potassium persulfate ABTS antioxidant assay used for medicinal plant extracts revealed variable antioxidant capacity based upon plant extraction process', *bioRxiv*, p. 2020.07.15.204065. doi: 10.1101/2020.07.15.204065 .
- Mukhriani, M. *et al.* (2019) 'Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L)', *ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2).
- Rahmayani Ulfah, Delisnis Pringgenies, A. D. (2013) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium telescopium*) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH (*Diphenyl Picryl Hidrazyl*)', *Diponegoro Journal of Marine Research*, 2(4), pp. 36–45.
- Sembiring, E. N. *et al.* (2018) 'Phytochemical Screening , Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia bonduc* (L .) Roxb', *Pharmacogn*, 10(1), pp. 123–127.
- Sutrisno, H. (2011) *Upaya Meningkatkan Daya Awet Kayu Waru (Hibiscus tiliaceus) Dari Serangan Rayap Tanah (Coptotermes curvignathus) Dengan Perendaman Larutan Boraks*. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam: Universitas Negeri Semarang.
- Suwartini, Lusi. Nopri Yanti, W. E. (2021) 'Optimasi Kondisi Pengujian Senyawa Flavonoid Total di dalam Ekstrak Tanaman Sebagai Pengayaan Bahan Ajar Praktikum Makromolekul dan Hasil Alam di Laboratorium Kimia Organik', *Jurnal Penelitian Sains*, 23(1), pp. 28–35.
- Tambe, V. D. and Bhambar, R. S. (2014) 'Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus Linn. Wood Extracts', *Research and Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4), pp. 41–47.
- Ulfah, W. (2018) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan , Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) dengan Metode Pemerangkapan ABTS',

- Skripsi, Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Vetiveria, L. *et al.* (2022) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total , Fenolik Total , Dan Alkaloid Total Dalam Ekstrak Etanol Herba Akar Wangi', *Duta Pharma Journal*, 2(1).
- Vifta, R. and Advistasari, Y. D. (2019) 'Studi In Vitro Potensi Antioksidan Dan Aktivitas Antidiabetes Fraksi Etil Asetat Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)', *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(2), pp. 93–102.
- Wardani Yachinta Aprilliani Kusuma (2020) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dengan Metode ABTS', *Skripsi*, Surakarta: Stikes Nasional.
- Yam, M. F. *et al.* (2008) 'Antioxidant potential of *Gynura procumbens*', *Pharmaceutical Biology*, 46(9), pp. 616–625.
- Yumni, G. G. *et al.* (2021) 'Profil Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Fraksi Air dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 12–17.
- Zulaikhah, S. T. (2017) 'The Role of Antioxidant to Prevent Free Radicals in The Body', *Sains Medika*, 8(1), p. 39.