

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit dengan prevalensi terbanyak di dunia kesehatan salah satunya ialah penyakit degeneratif. Fenomena ini berhubungan dengan stres oksidatif, keadaan ketika produksi radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas dapat meningkat secara drastis akibat paparan faktor eksternal seperti radiasi ultraviolet, asap rokok, pencemaran udara dan pola makan tidak seimbang. Ketika sistem pertahanan antioksidan endogen tidak mampu lagi menetralsisir kelebihan radikal bebas ini, terjadi kerusakan oksidatif pada berbagai komponen seluler penting seperti DNA, protein, dan lipid membran. Akumulasi kerusakan oksidatif ini dalam jangka panjang dapat memicu disfungsi seluler dan jaringan tubuh, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap patogenesis berbagai penyakit degeneratif (Andriani & Murtisiwi, 2020).

Efek negatif dari radikal bebas dapat diredam dengan antioksidan. Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat, menetralsisir, atau mencegah terbentuknya spesies oksigen reaktif maupun radikal bebas di dalam tubuh, dengan cara bertindak sebagai pendonor elektron atau agen pereduksi (Devitria *et al.*, 2020). Oleh karena itu, asupan antioksidan dari sumber eksogen, khususnya dari bahan alam, menjadi sangat penting. Tumbuhan merupakan sumber yang kaya akan senyawa antioksidan alami, seperti flavonoid, fenolat, tanin, dan vitamin, yang

memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas, menghambat pembentukan radikal baru, atau memperbaiki kerusakan oksidatif (Islamiyati *et al.*, 2024).

Sablo (*Acalypha wilkesiana*) adalah tanaman perdu hias yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae. Penggunaan *acalypha wilkesiana* sebagai bahan pengobatan secara tradisional telah dimanfaatkan di banyak penjuru dunia sejak zaman dahulu. Di Afrika, ekstrak daunnya digunakan untuk mengobati luka, infeksi kulit, dan gangguan pencernaan (Akinkunmi & Ibibia, 2025). Sementara di Asia Tenggara, rebusan daunnya dimanfaatkan sebagai obat batuk, antiinflamasi, demam dan wasir (Haq & Pratiwi, 2020). Penggunaan tradisional ini mengindikasikan adanya kandungan senyawa bioaktif dalam daun sablo yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologis, termasuk sifat antioksidan.

Menurut penelitian (Rohma *et al.*, 2025) tanaman *Acalypha wilkesiana* mengandung senyawa fitokimia seperti tanin, saponin, flavonoid, fenol, dan alkaloid yang diketahui memiliki aktivitas farmakologis, termasuk sebagai antioksidan. Namun, untuk mendapatkan senyawa aktif secara optimal, diperlukan ekstraksi yang tepat. Metode maserasi menggunakan etanol sebagai pelarut digunakan karena prosedurnya relatif sederhana namun terbukti efisien dalam mengekstraksi senyawa berpolaritas tinggi hingga sedang. Selanjutnya, proses fraksinasi dilakukan untuk memisahkan ekstrak kasar etanol daun sablo menjadi tiga fraksi berdasarkan tingkat kepolaran: fraksi N-heksan yang bersifat non-polar, fraksi etil asetat yang bersifat semi-polar, dan fraksi etanol

yang bersifat polar. Fraksinasi bertujuan mengidentifikasi fraksi paling aktif sebagai antioksidan serta golongan senyawa yang bertanggung jawab. Sayangnya, penelitian tentang fraksinasi ekstrak etanol daun sablo masih sangat terbatas, padahal informasi ini penting untuk pengembangan antioksidan alami yang terstandar

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu metode yang paling cepat dan umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan suatu sampel. Metode ini didasarkan pada reaksi senyawa antioksidan dalam sampel dengan molekul radikal bebas DPPH melalui mekanisme transfer hidrogen yang mengakibatkan perubahan warna larutan DPPH dari ungu pekat menjadi kuning pucat, kemudian diukur intensitasnya secara spektrofotometri pada panjang gelombang serapan maksimum. Nilai IC_{50} yang lebih rendah mengindikasikan bahwa senyawa tersebut membutuhkan konsentrasi yang lebih sedikit untuk menghambat 50% radikal DPPH, yang berarti aktivitas antioksidannya semakin kuat (Ansyori *et al.*, 2024)

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk mengkaji aktivitas antioksidan dari fraksi ekstrak etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) dengan metode DPPH secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan data ilmiah yang menguatkan peran daun sablo sebagai sumber antioksidan alami, serta memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan produk farmasi dan suplemen kesehatan herbal berbasis tanaman ini.

B. Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi N-heksan, etil asetat dan etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*)?
2. Berapa nilai antioksidan IC₅₀ fraksi N-heksan, etil asetat dan etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*)?
3. Fraksi manakah yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi di antara fraksi N-heksan, etil asetat, dan etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*)?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi N-heksan, etil asetat dan etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*).
2. Untuk mengetahui berapa nilai antioksidan IC₅₀ fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*).
3. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan tertinggi dari fraksi N-heksan, etil asetat dan etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*).

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Dapat memberikan dasar ilmiah tentang potensi antioksidan fraksi daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*) dan memperkaya literatur farmakognosi. Hasilnya dapat menjadi referensi untuk penelitian lanjutan terkait senyawa bioaktif tanaman ini.

2. Manfaat praktis

Fraksi daun Sablo berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami untuk suplemen, kosmetik, atau makanan fungsional.

3. Manfaat kebijakan

Temuan penelitian dapat mendorong pemerintah untuk memasukkan Sablo dalam daftar tanaman obat prioritas dan menyusun regulasi terkait pemanfaatan tanaman herbal. Hal ini sekaligus mendukung pelestarian biodiversitas lokal.

E. Ruang Lingkup dan Batasan Penelitian

1. Ruang lingkup

- a. Proses preparasi dan ekstraksi daun Sablo menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
- b. Uji kandungan senyawa metabolit sekunder melalui skrining fitokimia.
- c. Fraksinasi ekstrak daun sablo menggunakan pelarut N-heksan dan etil asetat
- d. Uji aktivitas antioksidan fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol ekstrak daun Sablo berdasarkan kemampuan mereduksi radikal bebas DPPH yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis.
- e. Penentuan nilai IC_{50} dari fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol serta pembandingan (vitamin C).

2. Batasan penelitian

- a. Bagian tanaman yang digunakan hanya daun Sablo, tidak mencakup batang, akar, atau bagian lainnya.
- b. Jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%, proses fraksinasi menggunakan pelarut N-heksan dan etil asetat.

- c. Metode uji antioksidan yang digunakan hanya DPPH, tanpa metode lain seperti ABTS atau FRAP.
- d. Pengujian dilakukan secara in vitro dan tidak mencakup uji in vivo atau toksisitas.
- e. Penilaian aktivitas antioksidan hanya didasarkan pada nilai IC_{50} , tanpa uji lanjutan terhadap stabilitas atau kinetika antioksidan.

F. Sistematika Penulisan

Penulisan proposal ini ditulis secara sistematis untuk memudahkan pembaca dalam memahami isi dan alur penelitian yang dilakukan. Adapun sistematika penulisan dalam proposal ini yaitu: BAB I Pendahuluan berisi tentang latar belakang, rumusan masalah, tujuan, manfaat, serta ruang lingkup dan batasan penelitian. BAB II Tinjauan Pustaka berisi teori-teori yang relevan seperti tanaman sablo, antioksidan, metode DPPH, spektrofotometri Uv-Vis, kerangka teori, kerangka konseptual, serta definisi operasional dan hipotesis. BAB III Metode Penelitian mencakup jenis penelitian, waktu dan tempat, populasi dan sampel, instrumen penelitian, prosedur penelitian, serta teknik analisis data. Di akhir, terdapat daftar pustaka.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Identifikasi Tanaman Sablo

Acalypha wilkesiana merupakan tanaman dari family Euphorbiaceae yang umumnya dikenal dengan nama *copper leaf*, *Joseph's coat*, atau *fire dragon*. Dalam bahasa Yoruba, tanaman ini disebut sebagai "Aworoso" sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama sablo. Tanaman hias ini berasal dari Fiji dan pulau-pulau di sekitarnya di Pasifik Selatan, namun telah menyebar ke daerah tropis Afrika, Amerika, dan Asia (Akinkunmi & Ibibia, 2025).



Gambar 2. 1 Tanaman Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Sumber: Dokumentasi Pribadi

2. Klasifikasi Tanaman Sablo

Menurut (Haq & Pratiwi, 2020) klasifikasi tanaman sablo yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Monochlamydae
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha wilkesiana</i> Müll.Arg

3. Morfologi Tanaman Sablo

Tanaman sablo (*Acalypha wilkesiana* Müll.Arg) mampu mencapai ketinggian hingga 3 meter dengan lebar sekitar 2 meter. Batang tegak, bulat, berstruktur berkayu, bercabang secara simpodial, dan umumnya berwarna coklat dengan semburat hijau serta ditumbuhi rambut-rambut halus. Helai daun berwarna hijau dengan bercak-bercak merah, berukuran panjang antara 10 hingga 20 cm dan lebar kurang lebih 15 cm. Bunga tanaman ini berwarna kemerahan, tumbuh di ujung cabang, bersifat tanpa mahkota (apetalous), dan tidak menghasilkan nektar, dengan periode pembungaan yang berlangsung dari bulan Februari sampai Desember. Daunnya yang menyerupai bentuk hati, bergerigi pada tepinya, berbulu dan memiliki berbagai kombinasi warna seperti hijau, ungu, kuning oranye, merah muda atau putih tergantung pengembangannya (Paraswati & Subarnas, 2018).

4. Kandungan Metabolit Sekunder

Berdasarkan pengujian fitokimia yang telah dilakukan, terbukti bahwa tanaman sablo (*Acalypha wilkesiana*) mengandung sejumlah senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai sumber bahan bioaktif alami. Berdasarkan penelitian (Akinkunmi & Ibibia, 2025) ekstrak metanol daun sablo diketahui mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, steroid, tanin, saponin, glikosida, dan kumarin, sedangkan ekstrak daun menggunakan pelarut N-heksan hanya mengandung senyawa alkaloid, kumarin dan steroid. Selain itu, terdapat beberapa senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak metanol daun *Acalypha wilkesiana* berdasarkan analisis GC-MS yaitu 2-propanone, furfural, 1,2-benzene dicarboxylic acid, n-decanoic acid, 7-tetradecene, myo-inositol, 3-ethoxy carbonyl-5-hydroxy tetrahydro pyran-2-one, 1-butoxy-1-isobutoxy-butane, caryophyllene, e-14-hexadecenal, octyl- β -d-glucopyranoside, 1,1-dibutoxy butane, di-tert-butyl decarbonate, 3-eicosene (e), di-n-octyl phthalate, serta acid,(2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester trans-9-octadecenoic. Pada ekstrak etanol daun sablo terdapat beberapa senyawa bioaktif, yaitu phytol acetate, 6-octadecenoic acid methyl ester, phytol, octadecanoic acid, 9-(4-methoxyphenyl) xanthene, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl hexadecanoate, acridin-9-yl-(4-methoxy-phenyl)-amine, oleana-11,13(18)-diene, vitamin E (α -tocopherol), campesterol, stigmasterol, dan sitosterol (Oyebode *et al.*, 2018). Temuan tersebut memperkuat bahwa tanaman sablo

mengandung metabolit sekunder yang bervariasi dan berpotensi memberikan efek farmakologis, termasuk sebagai antioksidan alami.

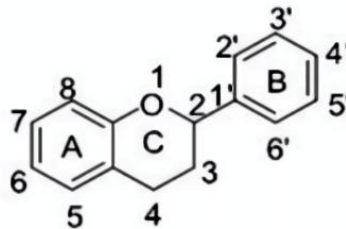
5. Manfaat Tanaman Sablo

Tanaman *Acalypha wilkesiana* telah digunakan untuk penyembuhan berbagai penyakit seperti malaria, penyakit kulit, gangguan gastro-intestinal, hipertensi dan diabetes mellitus (Dada *et al.*, 2019). Selain itu, tanaman ini banyak digunakan di Nigeria selatan sebagai obat untuk pengobatan infeksi kulit yang tidak terdefinisi pada anak-anak, gangguan dermatologis dan gangguan pencernaan (Akinloye *et al.*, 2016). Sari atau rebusan tanaman ini digunakan untuk mengobati gangguan gastrointestinal dan mengatasi infeksi jamur pada permukaan kulit, seperti panu (*Pityriasis versicolor*), Impetigo kontagiosa, *Candida intetrigo*, kurap (*Tinea versicolor*), *Tinea corporis*, dan *Tinea pedis* (Nwolisah *et al.*, 2024)

Kandungan fitokimia yang diidentifikasi dalam tanaman sablo seperti terpenoid, alkaloid, dan flavonoid, menunjukkan berbagai bioaktivitas, termasuk sifat antimutagenik, antikarsinogenik, antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Bedona *et al.*, 2024) ekstrak daun *Acalypha wilkesiana* mempunyai daya hambat yang kuat terhadap berbagai bakteri patogen, meliputi *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalachae*, *Edwardsiella tarda*, *Methicillin resistant S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada penelitian (Oyebode *et al.*, 2018) ekstrak etanol daun, kulit batang dan kulit akar tanaman sablo (*Acalypha wilkesiana*)

menunjukkan efek penghambatan kuat terhadap beberapa enzim kunci yang terkait dengan diabetes dan obesitas. Selain itu, tanaman ini mengandung asam galat yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker dengan cara induksi apoptosis dan penghambatan aktivitas telomerase (Paraswati & Subarnas, 2018).

6. Flavonoid



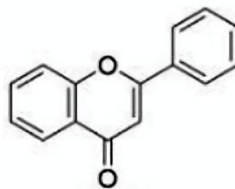
Gambar 2. 2 Rumus struktur flavonoid (*Phenylbenzopyrane*)

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

Flavonoid merupakan kelompok terbesar dalam golongan fitokimia yang termasuk dalam senyawa polifenol dan banyak ditemukan pada buah-buahan maupun sayuran. Secara umum, kerangka dasar karbon flavonoid $C_6-C_3-C_6$ yang terdiri dari tiga cincin fenolik yang saling terhubung, yaitu cincin A, B, dan C, dengan cincin C sebagai cincin heterosiklik yang mengandung satu atom oksigen. Struktur paling sederhana dari golongan flavonoid dikenal sebagai flavon. Flavonoid diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas tersebut terjadi melalui beberapa mekanisme, seperti menangkap radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species*, mengkelat ion logam, serta menghambat proses oksidasi *low-density lipoproteins* (Hassanpour & Doroudi, 2023).

Berdasarkan modifikasi pada kerangka dasarnya, flavonoid dibagi menjadi tujuh subkelas yaitu (Chen *et al.*, 2023):

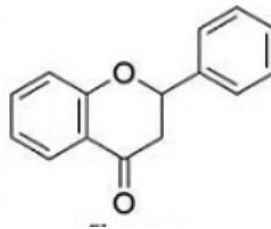
- a) Flavon sering ditemukan dalam bentuk glikosida dan tersebar luas dalam tumbuhan. Karakteristik flavon ditunjukkan oleh keberadaan gugus karbonil ($=O$) berada pada posisi 4 dan terdapat ikatan rangkap antara atom karbon 2 dan 3. Adapun senyawa yang termasuk golongan flavon diantaranya apigenin dan luteolin, baicalein, diosmetin, tangeretine.



Gambar 2. 3 Rumus struktur flavon

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

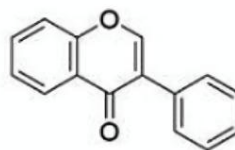
- b) Flavanon disebut juga dihidroflavon, tidak memiliki ikatan rangkap antara atom karbon 2 dan 3 pada cincin karbon kerangka flavonoid. Beberapa senyawa yang termasuk golongan flavanon diantaranya naringin, naringenin, hesperidin, hesperetin, pinocembrin, likviritin, dan eriodictyol. Senyawa flavanon diketahui memiliki aktivitas antioksidan melalui peningkatan aktivitas enzim antioksidan seperti CAT, PON, GPx, dan SOD serta berperan dalam meningkatkan sistem imun.



Gambar 2. 4 Rumus struktur flavanon

Sumber : (Chen et al., 2023)

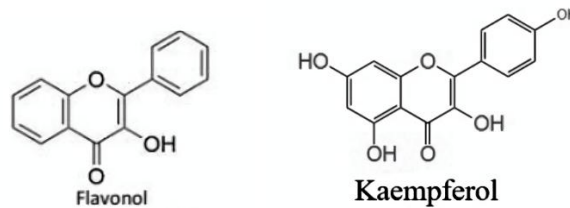
- c) Isoflavon merupakan subkelompok flavonoid yang memiliki cincin B pada posisi C3 cincin heterosiklik C dari kerangka diphenylpropane (C6–C3–C6). Isoflavon dibagi menjadi beberapa kelompok, diantaranya genistein, daidzein, dan glycitein. Struktur molekul isoflavon memiliki kemiripan dengan hormon estrogen pada hewan sehingga dikenal sebagai fitoestrogen. Selain itu, isoflavon dapat membantu menurunkan risiko kanker melalui penghambatan kerusakan DNA akibat radikal bebas karena memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.



Gambar 2. 5 Rumus struktur isoflavon

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

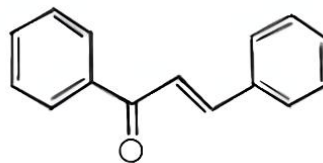
- d) Flavonol adalah senyawa flavonoid yang memiliki gugus keton pada strukturnya dan banyak ditemukan pada buah dan sayuran seperti bawang, kangkung, selada, tomat, apel, anggur. Senyawa flavonol diantaranya adalah kaempferol, quercetin, myricetin, dan fisetin.



Gambar 2. 6 Rumus struktur flavonol dan kaempferol

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

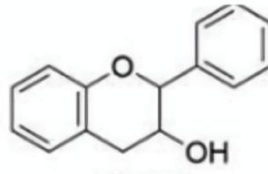
- e) Khalkon merupakan flavonoid yang unik dengan tidak adanya cincin aromatik C, subkelas dari senyawa khalkon diantaranya naringenin, pinocembrin, dan eriodictyol. khalkon menunjukkan beragam aktivitas farmakologis, antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antihelmintik, antiulser, antivirus, antiprotozoa, hingga antikanker.



Gambar 2. 7 Rumus struktur khalkon

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

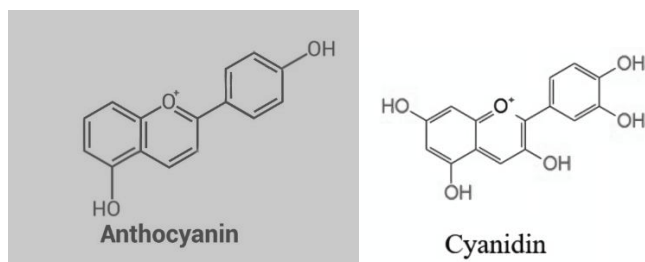
- f) Flavanol disebut juga flavan-3-ols atau catechin, memiliki gugus hidroksil pada posisi 3 tetapi tidak memiliki gugus keton dan ikatan jenuh antara posisi 2 dan 3. Flavanol disebut juga dihydroflavonol. Senyawanya antara lain catechin, epicatechin dan epigallocatechin gallate.



Gambar 2. 8 Rumus struktur flavanol

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

- g) Antosianin adalah senyawa flavonoid yang tidak memiliki gugus keton tetapi memiliki dua ikatan rangkap antara posisi atom karbon 1 dan 2. Senyawa ini memiliki spektrum warna yang bervariasi mulai dari oranye, merah, ungu, hingga biru, yang dipengaruhi oleh pH lingkungan mikro pada bunga, biji, buah, dan jaringan vegetatif tanaman. Secara umum, antosianin dikelompokkan menjadi lima tipe utama, yaitu sianidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, dan peonidin beserta turunannya. Kapasitas antioksidan senyawa antosianin sangat bergantung pada orientasi cincin pirilium serta banyaknya gugus hidroksil bebas beserta posisi masing-masing gugus tersebut pada struktur cincinnya.



Gambar 2. 9 Rumus struktur antosianin dan cyanidin

Sumber : (Chen *et al.*, 2023)

7. Antioksidan

Antioksidan adalah kelompok senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkal atau mengimbangi dampak negatif dari oksidan, termasuk di dalamnya enzim tertentu dan protein yang berperan dalam mengikat ion logam bebas. Secara umum, antioksidan diartikan sebagai zat yang walaupun hanya hadir dalam jumlah kecil, namun efektif dalam menghambat atau menghentikan reaksi oksidasi berantai pada substrat tertentu. Dengan kata lain, antioksidan berperan melindungi komponen sel dari ancaman kerusakan yang ditimbulkan oleh molekul tidak stabil maupun radikal bebas (Irianti *et al.*, 2021). Radikal bebas ialah molekul yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan berperan pada perkembangan berbagai penyakit, termasuk kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular (Taslina *et al.*, 2025)

Mekanisme kerja antioksidan umumnya melibatkan penyangkalan atau penangkal efek radikal bebas. Mereka melakukan hal ini dengan memberikan elektron untuk menstabilkan radikal bebas, atau dengan berinteraksi dengan molekul target agar tidak terjadi kerusakan. Misalnya, glutathione (GSH) sebagai antioksidan non-enzimatis berperan dalam reaksi redoks dan sebagai pelindung terhadap stres oksidatif pada berbagai jaringan tubuh (Bottino *et al.*, 2021). Antioksidan memiliki kemampuan untuk mengikat dan menstabilkan logam seperti besi dan tembaga, yang dapat memicu reaksi oksidasi. Dengan demikian, keberadaan antioksidan dapat mengurangi dan mencegah terjadinya proses oksidatif yang

berkelanjutan. Selain itu, antioksidan berfungsi memperbaiki sel yang telah rusak dan melengkapi sistem pertahanan tubuh secara menyeluruh, seperti metionin sulfoksida reduktase dan DNA repair enzyme, protease, transferase dan lipase (Nurkhasanah *et al.*, 2023)

Radikal bebas yang berasal dari sumber eksogen seperti polusi, alkohol, asap, dan radiasi, serta dari sumber endogen seperti mitokondria dan sel fagositik, dapat memicu stres oksidatif apabila jumlahnya berlebihan dalam tubuh. Kondisi ini mengakibatkan kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan, hingga organ, yang mempercepat proses penuaan dan timbulnya berbagai penyakit degenerative (Simanjuntak & Zulham, 2020). Oleh karena itu, antioksidan sangat penting dalam melindungi sel dari kerusakan dan menjaga keseimbangan redoks dalam tubuh. Berbagai penelitian terkini menunjukkan bahwa antioksidan yang berasal dari sumber alam khususnya tanaman obat, memiliki potensi yang baik karena dinilai lebih aman dan efektif dibandingkan antioksidan sintetis. Salah satu contohnya adalah ekstrak buah rotan yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 7,54 (Fendri *et al.*, 2025).

8. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu teknik pemisahan senyawa dari bahan padat atau cair dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses pemisahan ini berlangsung karena masing-masing komponen memiliki tingkat kelarutan yang berbeda-beda (Septiningrum *et al.*, 2024). Macam-macam metode

ekstraksi yang dapat digunakan yaitu (Wahyuningsih & Rakhwamati, 2024):

a. Maserasi

Istilah "maserasi" diturunkan dari kata Latin *macerate*, yang bermakna merendam. Keunggulan metode ini terletak pada proses perendaman simplisia dalam pelarut dengan kurun waktu tertentu, memungkinkan pelarut meresap dan melemahkan dinding sel, sehingga senyawa aktif yang mudah larut dapat terlepas dan berdifusi ke dalam pelarut. Proses ini berlangsung karena pelarut mampu menembus membran sel dan menjangkau bagian dalam sel yang mengandung metabolit aktif, kemudian melarutkannya keluar. Perbedaan konsentrasi antara bagian dalam sel dan larutan di sekitarnya menjadi pendorong terjadinya difusi, sehingga larutan pekat yang kaya senyawa aktif terdorong berpindah keluar dari sel. Siklus ini terus berlangsung secara berulang hingga dicapai kondisi keseimbangan konsentrasi antara kedua sisi membran sel.

Dalam praktiknya, maserasi dilakukan dengan mencampurkan 10 bagian simplisia yang telah dihaluskan ke dalam wadah lebar, lalu ditambahkan 75 bagian pelarut. Wadah kemudian ditutup rapat dan didiamkan selama 5 hari di tempat gelap, dengan sesekali diaduk setiap hari. Setelah disaring, residu dimaserasi ulang dengan pelarut baru. Ekstraksi dihentikan ketika pelarut tidak lagi berwarna, lalu larutan dipindahkan ke wadah porselin atau bejana dan diuapkan menggunakan

Rotary Evaporator atau secara manual. Pengadukan berperan penting dalam menyamakan konsentrasi larutan di luar simplisia, sehingga mengurangi perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan luar sel. Simplisia yang diekstraksi dengan maserasi harus mengandung senyawa aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mengembang. Pelarut yang digunakan bisa air, etanol, atau jenis lainnya. Kelebihan metode ini terletak pada kesederhanaan alat dan prosedurnya, sehingga mudah diaplikasikan.

b. Perkolasi.

Metode perkolasi dilakukan dengan membasahi simplisia yang telah dihaluskan hingga mencapai derajat kehalusan yang sesuai sebanyak 10 bagian menggunakan 2,5–5 bagian pelarut. Campuran tersebut kemudian didiamkan dalam wadah tertutup rapat selama kurang lebih 3 jam agar pelarut dapat meresap secara optimal ke dalam simplisia. Selanjutnya, massa simplisia dimasukkan secara bertahap ke dalam perkulator dan ditambahkan cairan penyari hingga seluruh bahan terendam. Perkulator kemudian ditutup dan dibiarkan selama 24 jam untuk proses maserasi awal. Setelah itu, keran perkulator dibuka dengan laju alir sekitar 1 mL per menit sambil memastikan permukaan simplisia tetap tertutup oleh pelarut. Perkolat yang diperoleh dikumpulkan dalam cawan porselen, kemudian pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* atau metode penguapan lainnya hingga diperoleh ekstrak

kental. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya disimpan pada suhu ruang dan terlindung dari paparan sinar matahari secara langsung.

c. Sokletasi

Metode sokletasi bekerja secara berkelanjutan dengan sistem sirkulasi pelarut yang otomatis. Simplisia yang telah ditimbang ditempatkan di dalam tabung sifon dan dipasang pada rangkaian alat soklet. Pelarut yang ada di labu alas bulat dipanaskan hingga menguap, kemudian uap tersebut mengalir naik melalui pipa samping dan mengalami kondensasi pada bagian pendingin tegak, sehingga berubah kembali menjadi cairan yang menetes ke tabung sifon. Cairan pelarut ini kemudian berkontak dengan simplisia dan mengekstrak senyawa aktif di dalamnya. Apabila volume cairan dalam sifon mencapai batas atas pipa sifon, seluruh cairan ekstrak akan turun kembali ke labu alas bulat, dan siklus ini berulang terus-menerus hingga semua zat aktif tersari habis, yang ditandai dengan jernihnya cairan di dalam tabung sifon. Ekstrak yang terkumpul kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator atau melalui penguapan dalam cawan porselen di udara terbuka.

d. Refluks

Pada prinsipnya, metode refluks merupakan varian dari ekstraksi berkelanjutan. Dalam pelaksanaannya, simplisia yang hendak diekstraksi dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama dengan cairan penyari, kemudian kondensor dipasang di atasnya. Campuran dipanaskan hingga mendidih sehingga pelarut menguap, kemudian uap pelarut tersebut

dikondensasi dan mengalir turun kembali untuk menyari ulang senyawa aktif di dalam simplisia secara terus-menerus.

9. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran senyawa dalam suatu ekstrak. Metode ini sering digunakan untuk mengelompokkan senyawa bioaktif sehingga memudahkan identifikasi dan pengujian aktivitas biologisnya. Keunggulan fraksinasi terletak pada kemampuannya memisahkan senyawa berdasarkan prinsip "*like dissolves like*", yaitu senyawa akan terlarut dalam pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang serupa. Oleh karena itu, senyawa polar cenderung terdistribusi ke dalam pelarut polar, senyawa semipolar ke dalam pelarut semipolar, dan senyawa nonpolar ke dalam pelarut nonpolar (Putri *et al.*, 2023)

Metode yang umum digunakan dalam pemisahan komponen-komponen senyawa yaitu (At-thobaniah, 2024) :

a. *Liquid-liquid extraction*

Teknik fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair merupakan metode pemisahan senyawa dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur dan memiliki polaritas berbeda. Proses ini umumnya menggunakan labu pisah (*separating funnel*), ekstrak awal ditambahkan pelarut lain sehingga terbentuk dua lapisan, yaitu fase atas dan fase bawah sesuai dengan perbedaan massa jenis dan polaritasnya. Metode ini memiliki keunggulan karena prosedurnya sederhana dan hanya menggunakan pelarut organik

serta air. Oleh karena itu, teknik ini banyak diterapkan dalam berbagai bidang seperti farmasi, industri makanan, petrokimia, dan hidrometalurgi. Namun, kekurangannya adalah kurang efektif untuk memisahkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang mirip, serta terkadang memerlukan waktu lebih lama untuk mendapatkan pemisahan yang optimal.

b. Kolom kromatografi

Teknik kromatografi kolom juga dapat diaplikasikan dalam proses fraksinasi, yang bekerja berdasarkan interaksi antara dua fase, yakni fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Prinsip pemisahannya yaitu memanfaatkan perbedaan karakteristik kimia senyawa terutama perbedaan polaritas, untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran. Perbedaannya terletak pada penggunaan kolom sebagai media pemisahan, di mana komponen dalam ekstrak akan terelusi secara bertahap sesuai tingkat interaksinya dengan fase diam. Kromatografi pada dasarnya adalah teknik analisis pemisahan yang memanfaatkan perbedaan distribusi komponen di antara dua fase yang tidak saling bercampur, yaitu fase diam (berupa padatan atau cairan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Salah satu bentuk sederhana kromatografi adalah KLT, yang menggunakan lempeng berlapis silika gel sebagai fase diamnya. Proses pengembangan dilakukan dengan menempatkan lempeng dalam chamber tertutup yang mengandung eluen (fase gerak). Pemisahan komponen berlangsung melalui mekanisme kapilaritas, sehingga masing-masing

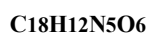
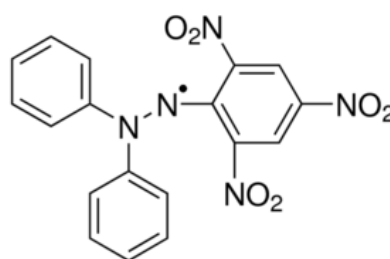
komponen bermigrasi dengan laju yang berbeda dan menghasilkan bercak-bercak yang terpisah satu sama lain

10. Metode DPPH

Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) telah banyak diadopsi dalam riset pangan dan ilmu kesehatan sebagai salah satu pendekatan standar untuk mengkuantifikasi aktivitas antioksidan berbagai bahan. DPPH merupakan radikal bebas organik yang relatif stabil dalam kondisi penyimpanan tertentu dan digunakan sebagai substrat dalam pengujian kapasitas penangkapan radikal bebas. Metode ini umum digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan karena memiliki kelebihan yaitu metode analisisnya sederhana, mudah, cepat dan sensitif terhadap sampel dalam konsentrasi kecil. Namun, terdapat keterbatasan dalam penggunaan metode DPPH, yaitu hanya dapat digunakan untuk menganalisis senyawa yang bersifat larut dalam pelarut organik, sehingga kurang sesuai untuk senyawa dengan kelarutan dalam air yang tinggi (Kurnia *et al.*, 2024).

Mekanisme dasar metode DPPH melibatkan interaksi langsung antara senyawa antioksidan dalam sampel dengan molekul DPPH melalui dua jalur reaksi, yaitu transfer elektron atau transfer atom hidrogen. Kedua mekanisme tersebut menghasilkan netralisasi radikal bebas DPPH. Apabila sampel mengandung senyawa antioksidan aktif, larutan akan mengalami perubahan warna yang dapat diamati secara visual, dari ungu pekat menjadi kuning pucat, sebagai indikasi terjadinya reduksi DPPH.

Intensitas perubahan warna larutan DPPH berbanding lurus dengan tingkat aktivitas antioksidan sampel, sehingga semakin tajam perubahan warna ke kuning menandakan kemampuan peredaman radikal bebas yang semakin besar. Selanjutnya, aktivitas penangkalan radikal bebas dapat dihitung dengan spektrofotometer dan dihitung persen inhibisinya dengan persamaan linear kemudian diinterpretasikan sebagai IC_{50} . Kemampuan suatu sampel dalam menghambat aktivitas radikal bebas DPPH dapat dikuantifikasi melalui perhitungan persentase inhibisi berdasarkan selisih absorbansi blanko dan sampel (Rahim, 2024). IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% dari jumlah radikal DPPH dalam kondisi awal pengujian. Nilai IC_{50} yang semakin rendah mengindikasikan bahwa diperlukan konsentrasi yang lebih kecil untuk mencapai efek penghambatan yang sama, yang berarti aktivitas antioksidan senyawa tersebut semakin tinggi (Prabandari *et al.*, 2024).



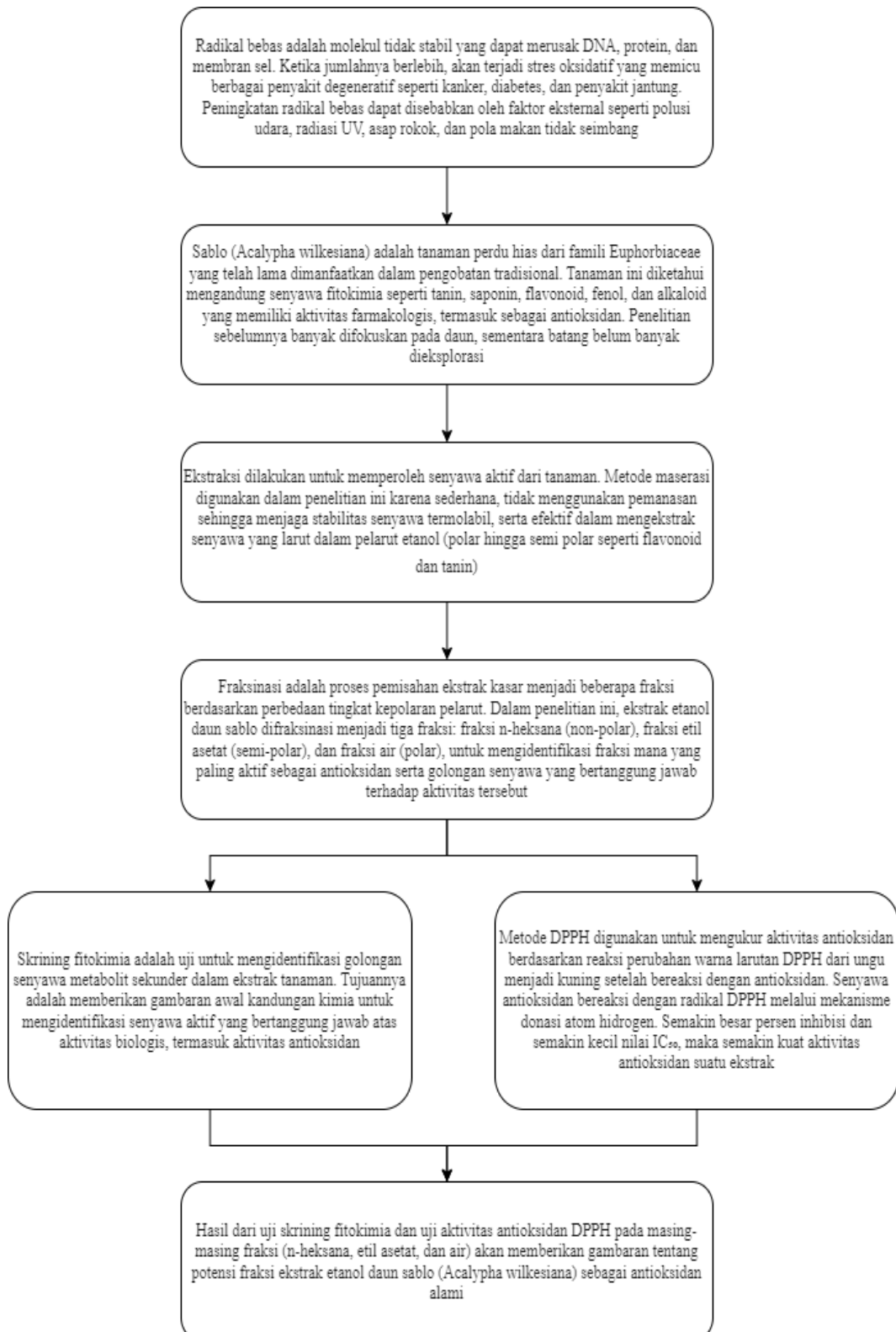
Gambar 2. 10 Struktur DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Sumber: (Prabandari *et al.*, 2024).

11. Spektrofotometri UV-Vis

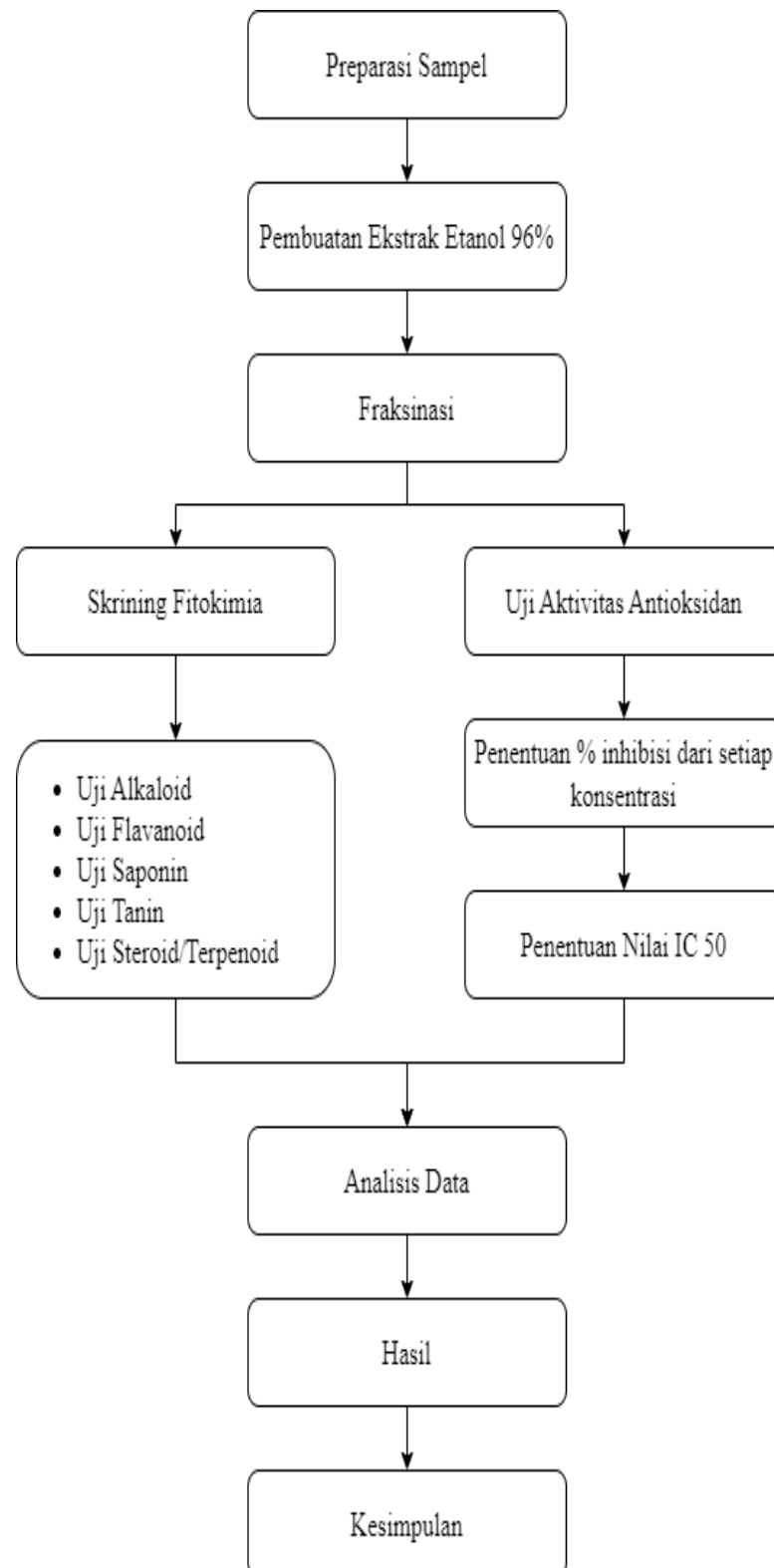
Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Pada umumnya senyawa yang dapat diidentifikasi adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom. Pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis tergolong cepat jika dibandingkan dengan metode lain (Sahumena *et al.*, 2020). Dasar dari metode spektrofotometri ini adalah kemampuan molekul zat yang terlarut dalam sampel untuk menyerap energi foton pada panjang gelombang spesifik, baik di daerah ultraviolet maupun sinar. Selain itu prinsip kerja dari metode ini didasarkan pada serapan cahaya dimana atom dan molekul berinteraksi dengan cahaya. Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum *Lambert-Beer* yaitu nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi zat. Ketika cahaya monokromatik melewati suatu larutan, sebagian energi cahaya akan diserap oleh senyawa yang terdapat dalam sampel, sementara sebagian lainnya dipantulkan maupun diteruskan. Besarnya cahaya yang diserap dinyatakan sebagai absorbansi. Spektrofotometer UV-Vis memanfaatkan sumber cahaya yang kemudian dipisahkan menjadi panjang gelombang tertentu oleh monokromator sebelum dilewatkan ke sampel. Instrumen ini bekerja pada wilayah ultraviolet dengan panjang gelombang 180–380 nm dan wilayah cahaya tampak dengan panjang gelombang 380–780 nm (Ahriani *et al.*, 2021).

B. Kerangka Teori



Gambar 2. 11 Kerangka Teori

C. Kerangka Konseptual



Gambar 2. 12 Kerangka Konseptual

D. Definisi operasional dan Kriteria objektif

Tabel 2. 1 Definisi operasional dan kriteria objektif

N o	Variabel	Defenisi operasional	Cara dan Alat Ukur	Kriteria Objektif	Skala
1.	Kandungan Metabolit sekunder	Senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid yang terdapat dalam fraksi daun Sablo	Cara: penambahan pereaksi spesifik seperti Reagen Mayer, Dragendorff, Mg, HCl, FeCl ₃ pada larutan ekstrak.	Terbentuknya endapan atau perubahan warna tertentu menunjukkan keberadaan senyawa metabolit tersebut.	Nominal
2.	Aktivitas Antioksidan Ekstrak	Kemampuan fraksi daun Sablo mereduksi radikal bebas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna dan nilai absorbansi.	Cara: Campuran fraksi pada berbagai konsentrasi direaksikan dengan DPPH, lalu diukur absorbansinya setelah inkubasi. Alat: Spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 517$ nm)	Semakin besar % inhibisi absorbansi, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.	Rasio.
3.	Nilai IC ₅₀	Konsentrasi fraksi daun Sablo yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH.	Cara: Data % inhibisi digunakan untuk membuat grafik regresi linier, lalu dihitung nilai IC ₅₀ . Alat: Software analisis (Excel/SPSS), kalkulasi regresi	Nilai IC ₅₀ $\leq$ 50 ppm (sangat kuat), 50–100 ppm (kuat), 100–150 ppm (sedang), >150 ppm (lemah)	Interval

E. Hipotesis Penelitian

1. Hipotesis (H₁):

Salah satu atau beberapa fraksi dari ekstrak daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui nilai IC₅₀ pada uji menggunakan metode DPPH.

2. Hipotesis nol (H_0):

Semua fraksi dari ekstrak daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) tidak memiliki aktivitas antioksidan atau tidak menunjukkan efek penghambatan radikal bebas DPPH secara nyata.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bersifat kuantitatif, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol ekstrak daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palopo pada bulan Februari-April 2026.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) yang diambil di Desa Puty, Kecamatan Bua, Provinsi Sulawesi Selatan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*).

D. Jenis dan Sumber Data

1. Jenis Data

Jenis data dalam penelitian ini adalah data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan ekstrak

menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menghitung % inhibisi dan nilai IC₅₀. Data kualitatif diperoleh dari skrining fitokimia yang menunjukkan keberadaan senyawa metabolit sekunder berdasarkan perubahan warna atau endapan.

2. Sumber Data

Data diperoleh langsung dari hasil eksperimen laboratorium yang dilakukan oleh peneliti, termasuk proses ekstraksi, proses fraksinasi, uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

E. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu gunting (joyko), pisau, toples, timbangan analitik (osuka), penangas air (maspion), pipet tetes (bomex), pipet volume (pyrex), ayakan mesh 20, tabung reaksi (iwaki), rak tabung, gelas beaker (approx), labu ukur (pyrex), batang pengaduk (iwaki), *rotary evaporator*, cawan porselin (haldenwanger), kuvet (quartz currete) dan spektrofotometer UV-Vis (shimadzu-genesys 10s UV-VIS). Bahan yang digunakan pada penelitian ini daun sablo (*Acalypha wilkesiana*), N-heksan, Etil asetat, HCl pekat, HCl 2N, pereaksi *mayer*, *dragendroff*, *bouchardatt*, DPPH, serbuk magnesium, etanol p.a, FeCl₃ 1%, H₂SO₄, etanol 96%, metanol p.a., asam askorbat, kloroform, asam asetat anhidrat, plastik wrap, aluminium foil dan kertas saring.

F. Teknik Pengumpulan Data

1. Preparasi Simplisia Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Daun dipisahkan dari batangnya lalu dicuci bersih, dipotong dengan ukuran lebih kecil, lalu dikeringkan dengan metode pengeringan sinar matahari dengan penutup kain hitam. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak menggunakan mesh 40 (Wijaya & Noviana, 2022)

2. Ekstraksi Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, sebanyak 300gram serbuk daun kering dimaserasi dalam 3L etanol (rasio 1:10) selama 72 jam pada suhu ruang ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Campuran diaduk secara periodik setiap 12 jam untuk optimasi ekstraksi. Penyaringan dilakukan dua tahap menggunakan kertas saring whatman, residu dimaserasi ulang dengan pelarut baru selama 72 jam tambahan. Filtrat hasil ekstraksi gabungan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 (Bedona *et al.*, 2024)

3. Skrining Fitokimia

Menurut penelitian (Islami *et al.*, 2024) prosedur uji skrining fitokimia yaitu :

a. Uji alkaloid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquadest, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring, digunakan filtrat untuk uji alkaloid, diambil

3 buah tabung reaksi, lalu dimasukkan 2 mL filtrat ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan masing-masing 5 tetes reagen *Mayer*, *Bouchardat* dan *Dragendorff* ke dalam tabung reaksi. Apabila terbentuk endapan menunjukkan alkaloid, dengan pereaksi *Mayer* memberikan endapan berwarna putih, pereaksi *bouchardatt* endapan coklat dan pereaksi *Dragendorff* memberikan endapan berwarna jingga.

b. Uji flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan 40 mg ekstrak ke dalam 2 mL aquadest dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu yang dijaga tidak melebihi 50°C. Setelah didinginkan, larutan disaring dan filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,5 mg serbuk magnesium serta 1 mL HCl pekat. Campuran kemudian dikocok secara merata dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga yang mengindikasikan adanya golongan senyawa flavonoid

c. Uji saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. Larutan kemudian dikocok selama 1 menit hingga menghasilkan busa, setelah itu ditambahkan 2 tetes HCl pekat. Keberadaan saponin ditunjukkan oleh terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang selama kurang lebih 1 menit setelah penambahan asam klorida pekat.

d. Tanin

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan akuades dan dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Keberadaan tanin ditandai dengan munculnya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman setelah penambahan pereaksi, yang menunjukkan reaksi positif terhadap golongan senyawa tanin.

e. Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 40 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL kloroform. Setelah itu, ditambahkan 1 mL asetat anhidrat dan 0,4 mL asam sulfat pekat secara hati-hati melalui dinding tabung reaksi. Campuran kemudian diamati untuk melihat perubahan warna yang terbentuk. Munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan hasil positif terhadap golongan steroid, sedangkan warna jingga, jingga kecokelatan, atau ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dalam sampel.

4. Fraksinasi

Sebanyak 20 gram ekstrak daun dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan menggunakan 200 mL aquadest. Larutan tersebut selanjutnya ditambahkan 200 mL N-heksan sebagai pelarut nonpolar, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian atas merupakan fraksi N-

heksan, sedangkan lapisan bagian bawah berupa fraksi etanol-air. Fraksi etanol-air yang diperoleh kemudian dipisahkan dan ditambahkan 200 mL etil asetat sebagai pelarut semipolar. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, dikocok hingga homogen, kemudian didiamkan sampai terbentuk dua fase. Lapisan atas merupakan fraksi etil asetat, sedangkan lapisan bawah adalah fraksi etanol-air. Masing-masing fraksi yang diperoleh, yaitu fraksi N-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air, selanjutnya diuapkan menggunakan evaporator hingga diperoleh fraksi kental yang siap digunakan untuk pengujian lebih lanjut (Norhaslinda *et al.*, 2023)

5. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menurut (Kiromah *et al.*, 2021) :

a. Pembuatan larutan induk

Ditimbang 5 mg DPPH, lalu dilarutkan dengan metanol 10 mL. Masukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian dicukupkan sampai garis tanda, hingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm.

b. Pembuatan larutan blanko

Masukkan 1 mL larutan induk DPPH ke dalam labu ukur 5 mL, dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda. Larutan di inkubasi selama 30 menit.

c. Pembuatan larutan induk sampel

Sebanyak 5 mg sampel uji ditimbang masing-masing, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dilarutkan dengan metanol sampai garis tanda, diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

d. Pembuatan larutan uji

Larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; dan 0,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 5 mL. Selanjutnya, volume larutan dicukupkan dengan metanol hingga tanda batas dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan uji kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda dan telah dibungkus aluminium foil untuk menghindari paparan cahaya. Ke dalam setiap tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan 2 mL metanol p.a., kemudian campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah proses inkubasi selesai, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Setiap pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan (triplo) untuk meningkatkan ketelitian data yang diperoleh.

e. Pembuatan larutan pembanding

Dibuat dengan menimbang 5 mg asam askorbat, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan menggunakan

metanol p.a. hingga mencapai tanda batas sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan stok tersebut selanjutnya diencerkan untuk menghasilkan beberapa variasi konsentrasi, yaitu 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing larutan pembanding kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda serta telah dilapisi aluminium foil untuk menghindari paparan cahaya. Selanjutnya, ke dalam setiap tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan 2 mL metanol p.a., kemudian campuran dihomogenkan menggunakan vortex. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit sesuai dengan operating time yang telah ditentukan. Setelah proses inkubasi selesai, absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasi.

G. Teknik Analisis Data

1. Analisis hasil pengujian skrining fitokimia yaitu dengan melihat perubahan yang terjadi pada larutan uji setelah direaksikan.
2. Penentuan antioksidan yaitu dengan membuat regresi linier dari % Inhibisi dari setiap konsentrasi larutan sampel menggunakan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs.Blanko} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.Blanko}} \times 100\%$$

3. Adapun nilai IC₅₀ ditentukan dengan membuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan hasil % inhibisi (sumbu y) yang

didapat persamaan $y = a + bx$ yang dalam hal ini dapat dihitung nilai IC_{50} menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Ket:

IC_{50} : Konsentrasi hambatan 50%

a : Titik potong kurva pada sumbu Y (*intercep*)

b : Kemiringan kurva (*slope*)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Skrining fitokimia

Tabel 4. 1 Hasil skrining fitokimia

Uji senyawa	Pereaksi	Syarat	Fraksi		
			N-heksan	Etil asetat	Etanol
Alkaloid	<i>Mayer</i>	Endapan putih	—	—	+
	<i>Bouchardatt</i>	Endapan coklat	+	+	+
	<i>Dragendorff</i>	Endapan jingga	+	+	+
Flavonoid	HCl pekat + serbuk magnesium	Berwarna kuning, jingga, merah	—	+	+
Saponin	Aquadest panas + HCl pekat	Berbuih	—	—	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Biru kehitaman	—	+	+
Steroid	Kloroform + asetat anhidrat	Hijau kebiruan	+	—	—

2. Fraksinasi Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Tabel 4. 2 Hasil %rendemen

Fraksi	Bobot Fraksi	Rendeman %
Fraksi N-heksan	1,5 gr	7,5%
Fraksi Etil asetat	2 gr	10%
Fraksi etanol	5 gr	25%

3. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Tabel 4. 3 Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan

Konsentrasi	Replikasi % inhibisi			Rata- Rata	Regresi Linear	Nilai IC ₅₀
	1	2	3			
40 ppm	32,65	31,50	30,78	31,64	y =	78,52 ppm
60 ppm	40,17	39,88	39,88	39,97	0,5039x	
80 ppm	49,71	48,84	48,41	48,98	+ 10,432	
100 ppm	62,28	62,13	62,28	62,23		

4. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Tabel 4. 4 Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi	Replikasi % inhibisi			Rata- Rata	Regresi Linear	Nilai IC ₅₀
	1	2	3			
40 ppm	48,12	50,57	49,27	49,32	y =	
60 ppm	88,15	88,43	88,43	88,33	0,7869x	28,28 ppm
80 ppm	93,64	93,78	93,64	93,68	+ 27,746	
100 ppm	100	100	100	100		

5. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Sablo (*Acalypha wilkesiana*)

Tabel 4. 5 Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol

Konsentrasi	Replikasi % inhibisi			Rata- Rata	Regresi Linear	Nilai IC ₅₀
	1	2	3			
40 ppm	53,46	53,61	53,75	53,60	y =	
60 ppm	73,69	74,13	74,56	74,12	0,5459x	25,36 ppm
80 ppm	82,51	82,65	82,51	82,55	+36,153	
100 ppm	87,71	87,28	86,56	87,18		

6. Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Askorbat

Tabel 4. 6 Aktivitas Antioksidan Larutan Standar

Konsentrasi	Replikasi % inhibisi			Rata-Rata	Regresi Linear	Nilai IC ₅₀
	1	2	3			
4 ppm	34,82	34,97	34,97	34,92	y =	12,01 ppm
6 ppm	32,22	32,08	32,08	32,12	2,342x +	
8 ppm	37,86	36,70	36,70	37,08	21,856	
10 ppm	48,84	48,98	48,84	48,88		

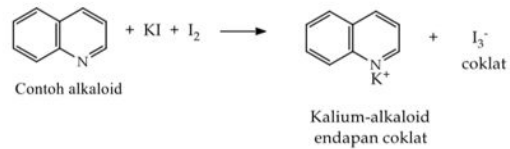
B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) dengan metode DPPH secara Spektrofotometri UV-Vis. Daun sablo yang digunakan di peroleh dari Kecamatan Bua, Kabupaten Luwu, Sulawesi Selatan. Proses selanjutnya yaitu sortasi yang bertujuan untuk memisahkan bahan tanaman lain yang tidak diinginkan dan bagian yang cacat atau rusak dimakan ulat (Wijaya dan Noviana, 2022). Pencucian daun sablo menggunakan air bersih yang mengalir kemudian dirajang agar proses pengeringan berlangsung cepat. Tahap selanjutnya yaitu pengeringan menggunakan sinar matahari langsung ditutup dengan kain hitam, bertujuan untuk menghalangi sinar matahari agar tidak langsung mengenai daun sehingga kerusakan zat aktif karena cahaya dapat diminimalkan (Wijaya dan Noviana, 2022). Setelah kering maksimal, daun tersebut dihaluskan dengan blender dan diayak menjadi serbuk simplisia.

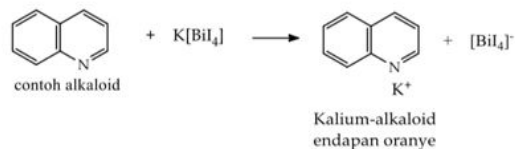
Serbuk simplisia ditimbang 300 g dan di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3L selama 3 hari kemudian

disaring. Residu hasil penyaringan kemudian diremaserasi kembali dengan 3L etanol 96% untuk memaksimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder yang masih tertinggal. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena mampu menarik senyawa organik baik yang bersifat polar maupun nonpolar, sehingga hampir seluruh golongan metabolit sekunder dapat terekstraksi (Hanifa *et al.*, 2021). Digunakan metode maserasi karena pengerjaannya praktis dan peralatannya sederhana. Prinsip maserasi yaitu pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan (Maryam *et al.*, 2024). Setelah proses remaserasi selesai, campuran disaring kembali dan filtrat yang diperoleh digabungkan untuk dilakukan pengentalan menggunakan *rotary evaporator*, ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 54,56 gr dengan rendemen 18,1%.

Ekstrak kental daun sablo yang didapat, kemudian di fraksinasi. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar cenderung larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa yang bersifat polar cenderung larut dalam pelarut polar (Norhaslinda *et al.*, 2023). N-heksan yang bersifat nonpolar cenderung menarik senyawa seperti lipid, minyak, karotenoid, steroid, dan terpenoid. Sebaliknya, etil asetat sebagai pelarut semipolar mampu melarutkan senyawa dengan kepolaran menengah, termasuk flavonoid aglikon dan beberapa senyawa fenolik (Rohmah, 2020). Hasil persentase rendemen fraksi dapat dilihat pada tabel 4.2, rendemen menunjukkan seberapa efisien proses ekstraksi dalam menarik keluar metabolit dari sampel dengan syarat



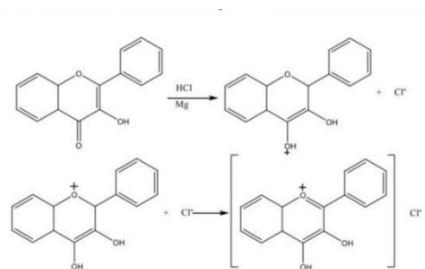
Gambar 4. 2 Persaman reaksi bouchardatt



Gambar 4.3 Persamaan reaksi dragendroff

Sumber : (Oktavia & Sutoyo, 2021)

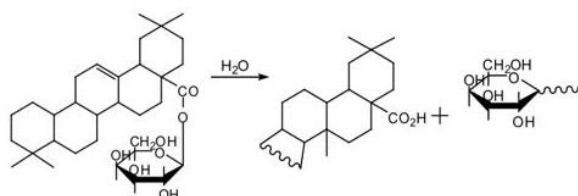
Pada uji flavonoid didapatkan hasil positif terhadap fraksi etanol dan etil asetat yang ditandai dengan perubahan warna jingga dan merah, sedangkan pada fraksi N-heksan didapatkan hasil negatif. Reaksi ini terjadi karena penambahan HCl pekat berfungsi menghidrolisis flavonoid yang masih berbentuk glikosida menjadi bentuk aglikon yang lebih mudah bereaksi. Dalam suasana asam, serbuk magnesium akan bereaksi dengan HCl menghasilkan ion Mg^{2+} dan gas hidrogen (H_2), yang ditandai dengan terbentuknya gelembung pada campuran. Ion Mg^{2+} selanjutnya berinteraksi dengan senyawa flavonoid membentuk kompleks berwarna sehingga menghasilkan perubahan warna kuning, jingga, atau merah (Hanifa *et al.*, 2021). Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin dalam sampel yang diuji.



Gambar 4. 4 Persamaan reaksi pengujian senyawa flavonoid

Sumber : (Oktavia & Sutoyo, 2021)

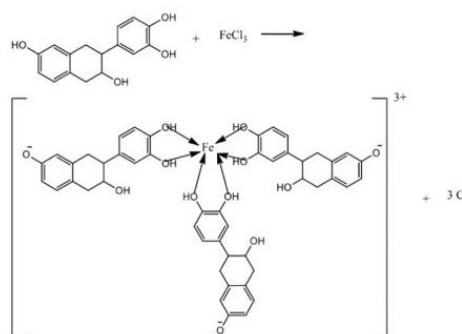
Pada uji saponin, hasil positif ditunjukkan oleh fraksi etanol dengan terbentuknya buih setelah dikocok dan ditambahkan HCl pekat. Penambahan HCl 2N bertujuan untuk meningkatkan kepolaran medium, sehingga gugus hidrofilik pada saponin dapat berikatan lebih kuat dan busa yang terbentuk menjadi lebih stabil (Lingga *et al.*, 2025). Saponin merupakan glikosida yang terdiri dari sapogenin dan rantai gula yang polar. Karena bersifat amfifilik, saponin akan membentuk misel saat dikocok dengan air, sehingga tampak sebagai busa (Hanifa *et al.*, 2021). Sementara itu, fraksi N-heksan dan fraksi etil asetat menunjukkan hasil negatif. Menurut Moito *et al.*, (2023) saponin adalah senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil, sehingga memerlukan pelarut polar untuk dapat terekstraksi dengan baik.



Gambar 4. 5 Persamaan reaksi pengujian senyawa saponin

Sumber : (Oktavia & Sutoyo, 2021)

Pada uji tanin dengan FeCl_3 1%, hasil positif warna biru kehitaman ditemukan pada fraksi etil asetat dan etanol, sedangkan fraksi N-heksan negatif. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya kompleks antara ion Fe^{3+} dengan tanin, yang menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman tergantung jenis tanin (Hanifa *et al.*, 2021). Tidak terdeteksinya tanin pada fraksi N-heksan disebabkan oleh sifat polar tanin akibat adanya gugus hidroksil. Sifat polar ini membuat tanin mudah terekstraksi oleh pelarut polar dan semi polar, namun tidak larut dalam pelarut nonpolar seperti N-heksan (Langi *et al.*, 2022).

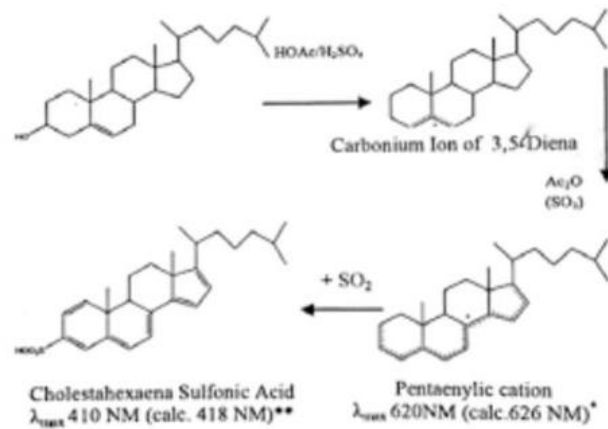


Gambar 4. 6 Persamaan reaksi pengujian senyawa tanin

Sumber : (Oktavia & Sutoyo, 2021)

Pada uji steroid dengan pereaksi kloroform dan asetat anhidrat, hasil positif ditunjukkan hanya oleh fraksi N-heksan dengan warna hijau kebiruan. Penyebabnya karena golongan steroid mengalami oksidasi yang akan membentuk ikatan rangkap terkonjugasi (Oktavia & Sutoyo, 2021). Sementara itu, fraksi etil asetat dan fraksi etanol menunjukkan hasil negatif, hal ini sejalan dengan literatur Maryam *et al* (2024) yang menyatakan bahwa steroid tersusun dari isoprene-isoprene rantai panjang karbon sehingga

steroid memiliki sifat non polar dan banyak ditemukan di dalam pelarut N-heksan. Senyawa steroid yang bersifat non polar yaitu seperti fitosterol dan kolesterol.



Gambar 4. 7 Persamaan reaksi pengujian senyawa steroid

Sumber : (Oktavia & Sutoyo, 2021)

Hasil skrining fitokimia yang diperoleh sejalan dengan penelitian Akinkunmi dan Ibibia (2025) yang menyatakan bahwa ekstrak metanol daun *Acalypha wilkesiana* kaya akan alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Hal ini juga didukung oleh penelitian Rohma *et al* (2025) yang melaporkan bahwa ekstrak daun sablo mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid yang berperan dalam berbagai aktivitas farmakologis. Sementara pada fraksi N-heksan mengandung senyawa alkaloid dan steroid, sejalan dengan dengan temuan Akinkunmi dan Ibibia (2025) yang melaporkan bahwa ekstrak N-heksan daun sablo mengandung alkaloid, steroid, dan kumarin. Penelitian Oyeboode *et al* (2018) juga mengidentifikasi berbagai senyawa golongan steroid seperti stigmasterol dan sitosterol pada tanaman sablo.

2. Uji aktivitas antioksidan

Dari ketiga fraksi (N-heksan, etil asetat, dan etanol) ekstrak daun sablo dievaluasi secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Metode DPPH dipilih karena merupakan uji cepat, sederhana, sensitif, dan hanya membutuhkan sampel dalam jumlah kecil untuk mengukur kemampuan suatu senyawa sebagai donor atom hidrogen atau penangkap radikal bebas (Rahim, 2024). Prinsipnya adalah terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning ketika radikal DPPH tereduksi oleh antioksidan, yang absorbansinya berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan (Kurnia *et al.*, 2024).

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal DPPH. Berdasarkan hasil penelitian, fraksi N-heksan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 78,52 ppm, fraksi etil asetat sebesar 28,28 ppm, sedangkan fraksi etanol menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 25,36 ppm. Asam askorbat yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar 12,01 ppm. Menurut Norhaslinda *et al* (2023), aktivitas antioksidan dikategorikan sangat kuat apabila memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat pada rentang 50–100 ppm, sedang pada rentang 100–250 ppm, dan lemah pada rentang 250–500 ppm. Berdasarkan kategori tersebut, asam askorbat, fraksi etil asetat dan fraksi etanol termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, sedangkan fraksi N-heksan termasuk kategori kuat.

Aktivitas antioksidan pada fraksi N-heksan terutama berasal dari kandungan steroid seperti stigmasterol, campesterol dan β -sitosterol serta alkaloid non-polar seperti konesin (Akinkunmi & Ibibia, 2025; Oyebode *et al.*, 2018). Mekanisme antioksidannya yaitu menghambat proses peroksidasi lipid dan menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA), serta meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase* dalam menetralkan *reactive oxygen species* sehingga mampu melindungi sel dari stres oksidatif (Bakrim *et al.*, 2022; Parida *et al.*, 2026). Sementara itu, konesin bekerja dengan cara donasi atom hidrogen dari gugus -NH serta kemampuan mengkelat ion logam berkontribusi mencegah pembentukan radikal baru (Nisa *et al.*, 2024). Kombinasi kedua mekanisme ini menciptakan efek sinergis yang memperkuat aktivitas antioksidan fraksi N-heksan.

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan fraksi N-heksan dengan nilai IC_{50} sebesar 28,28 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Aktivitas yang sangat kuat ini disebabkan oleh kandungan turunan senyawa flavonoid seperti kaempferol-3-O-rutinoside, serta turunan senyawa alkaloid acridin-9-yl-(4-methoxyphenyl)-amine, acalyphin dan tanin (Akinkunmi & Ibibia, 2025; KNApSAcK, 2025; Oyebode *et al.*, 2018). Mekanisme aktivitas antioksidan kaempferol terjadi melalui kemampuannya mengkelat ion Cu(II) sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas dan menekan proses oksidasi. Turunan 9-akridinil menunjukkan mekanisme redoks melalui

transfer elektron tunggal, yaitu pelepasan elektron dari gugus amina sekunder dan cincin akridin (Rupar *et al.*, 2025). Kandungan tanin pada fraksi etil asetat juga berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan karena memiliki kemampuan untuk memperlambat proses oksidasi dan mengkhelat ion besi (Nisa *et al.*, 2024).

Fraksi etanol menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling baik di antara ketiga fraksi dengan nilai IC_{50} sebesar 25,36 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Fraksi etanol mengandung senyawa polar seperti flavonoid antosianin cyanidin 3-O-(2"-galloyl- β -galactopyranoside) dan cyanidin 3-O- β -galactopyranoside, turunan tanin seperti acalyphidin D1, saponin dan alkaloid acalyphin (Akinkunmi & Ibibia, 2025; Siraj *et al.*, 2016). Mekanisme antosianin dengan cara *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Single Electron Transfer* (SET) sehingga radikal menjadi lebih stabil (Noman *et al.*, 2025). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antioksidan yaitu sebagai donor hidrogen kepada senyawa radikal bebas. Keberadaan saponin yang hanya ditemukan pada fraksi etanol diduga turut berkontribusi terhadap aktivitas antioksidannya. Saponin memicu pembentukan hidroperoksida yang dapat menghambat pembentukan lipid peroksida (Nisa *et al.*, 2024). Penelitian Norhaslinda *et al* (2023) juga melaporkan bahwa fraksi polar dari suatu ekstrak tanaman umumnya memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi non-polar, karena senyawa antioksidan utama seperti flavonoid dan fenolik bersifat polar.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, urutan aktivitas antioksidan dari yang paling kuat adalah fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi N-heksan yang menunjukkan bahwa semakin polar fraksi, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, senyawa antioksidan utama seperti flavonoid dan fenolik bersifat polar karena memiliki banyak gugus hidroksil (-OH). Kedua, pelarut polar seperti etanol lebih efektif menarik senyawa-senyawa tersebut dibandingkan pelarut non-polar seperti N-heksan. Ketiga, fraksi N-heksan yang bersifat non-polar hanya efektif menarik steroid dan terpenoid non-polar, yang aktivitas antioksidannya relatif lebih rendah dibandingkan flavonoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Norhaslinda *et al* (2023) bahwa fraksi polar dari suatu ekstrak tanaman umumnya menunjukkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi non-polar.

Secara keseluruhan, penelitian ini membuktikan bahwa fraksi etanol dan fraksi etil asetat daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat, sedangkan fraksi N-heksan termasuk dalam kategori kuat. Dengan demikian, daun sablo berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami untuk berbagai aplikasi farmasi, seperti bahan aktif dalam sediaan kosmetik, suplemen kesehatan (kapsul antioksidan), maupun bahan baku obat herbal untuk penyakit degeneratif yang berhubungan dengan stres oksidatif.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu dapat disimpulkan bahwa sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi ekstrak etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) bervariasi pada setiap fraksi. Pada fraksi N-heksan ditemukan senyawa alkaloid dan steroid. Pada fraksi etil asetat ditemukan senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Pada fraksi etanol ditemukan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Nilai IC_{50} pada fraksi N-heksan 78,52 ppm (kategori kuat), fraksi etil asetat sebesar 28,28 ppm (kategori sangat kuat), fraksi etanol sebesar 25,36 ppm (kategori sangat kuat) dan pembanding asam askorbat sebesar 12,01 ppm (kategori sangat kuat).
3. Fraksi etanol ekstrak daun *Acalypha wilkesiana* memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan fraksi N-heksan dan fraksi etil asetat, ditunjukkan oleh nilai IC_{50} paling kecil yaitu 25,36 ppm.

B. Keterbatasan

Penelitian ini hanya menggunakan metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan dan belum dilakukan identifikasi senyawa aktif secara spesifik. Selain itu, pengujian masih bersifat *in vitro* sehingga belum dapat menggambarkan aktivitas antioksidan dalam sistem biologis secara langsung.

C. Implikasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etanol daun sablo (*Acalypha wilkesiana*) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan etil asetat. Temuan ini menunjukkan bahwa daun sablo berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami dan dapat menjadi dasar bagi penelitian lanjutan terkait pemanfaatannya di bidang farmasi.

D. Saran

Disarankan agar melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengkarakteristik senyawa aktif spesifik dari daun sablo yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan secara *in vivo* dan *in silico*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahriani, zelviani, s., hernawati, & fitriyanti. (2021). Analisis nilai absorbansi untuk menentukan kadar flavonoid daun jarak merah (*jatropha gossypifolia* l.) Menggunakan spektrofotometer uv-vis. *Jurnal fisika dan terapannya*, 8(2), 56–64. <https://doi.org/10.24252/jft.v8i2.23379>
- Akinkunmi, i. A., & ibibia, e. T. (2025). Phytochemical profile and antioxidant activity of *acalypha wilkesiana* leaves. *International journal of chemistry and chemical processes e-issn*, 11(1), 2025. <https://doi.org/10.56201/ijccp.v11.no1.2025.pg57.73>
- Akinloye, d. ., osatuyi, o. ., musibau, o. ., yusuf, a. ., & adewuyi, s. (2016). View of in vitro antioxidant activities, elemental analysis and some bioactive constituents of *acalypha wilkesiana* muellarg and *acalypha wilkesiana* java white leaf extracts_. *J. Chem. Soc. Nigeria*, 41(2), 150–157.
- Andriani, d., & murtisiwi, l. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga telang (*clitoria ternatea* l) dari daerah sleman dengan metode dpph antioxidant activity test of 70% ethanol extract of telang flower (*clitoria ternatea* l) from sleman area with dpph method. In *jurnal farmasi indonesia* (vol. 1, number 1). <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>
- Ansyori, a. K., tamrin, m., sa'adah, h., tinggi, s., & samarinda, i. K. (2024). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji buah nyirih (*xylocarpus granatum*) dengan metode dpph secara spektrofotometri uv-vis. *Jurnal riset kefarmasian indonesia*, 6(2), 233–248.
- At-thobaniah, r. L. (2024). *Uji aktivitas antioksidan pada fraksi etanol dan fraksi etil asetat terhadap daun manggis (garcinia mangostana l.) Dengan menggunakan metode dpph (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)*.
- Bakrim, s., benkhaira, n., bourais, i., benali, t., lee, l. H., omari, n. El, sheikh, r. A., goh, k. W., ming, l. C., & bouyahya, a. (2022). Health benefits and pharmacological properties of stigmaterol. *Antioxidants*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/antiox11101912>
- Bedona, c., paredes, a. J., brana, b. J., calixtro, e. Y., melgarejo, y. N., ringor, p. R., & pakingking, r. (2024). View of phytochemical composition, antioxidant and antibacterial activity of the philippine copperleaf (*acalypha wilkesiana*) ethanolic extract. *Journal of biological studies*, 7(4), 154–168.
- Bottino, f., lucignani, m., napolitano, a., dellepiane, f., visconti, e., espagnet, m. C. R., & pasquini, l. (2021). In vivo brain gsh: mrs methods and clinical applications. *Antioxidants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/antiox10091407>

- Chen, s., wang, x., cheng, y., gao, h., & chen, x. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *Molecules*, 28(13), 1–27. <https://doi.org/10.3390/molecules28134982>
- Dada, a. O., adekola, f. A., dada, f. E., adelani-akande, a. T., bello, m. O., okonkwo, c. R., inyinbor, a. A., oluyori, a. P., olayanju, a., ajanaku, k. O., & adetunji, c. O. (2019). Silver nanoparticle synthesis by acalypha wilkesiana extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial testing. *Heliyon*, 5(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02517>
- Depkes ri. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat* (iv). Departemen kesehatan republik indonesia.
- Devitria, r., sepriyani, h., & sari, s. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun ciplukan menggunakan metode 2,2-diphenyl 1-picrilhidrazyl (dpph). *Jurnal penelitian farmasi indonesia*, 9(1), 31–36.
- Fendri, s. T. J., farida, r., tania, p., & ferilda, s. (2025). Formulasi dan uji aktivitas antioksidan handbody lotion dari ekstrak etanol buah rotan (calamus sp). *Jurnal kesehatan saintika meditory*, 8(1), 395–403. <https://jurnal.syedzasaintika.ac.id>
- Hanifa, n. I., wirasisya, d. G., muliani, a. E., utami, s. B., & sunarwidhi, a. L. (2021). Phytochemical screening of decoction and ethanolic extract of amomum dealbatum roxb. Leaves. *Jurnal biologi tropis*, 21(2), 510–518. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2758>
- Haq, s. A. N., & pratiwi, r. (2020). Penelusuran aktivitas antikanker payudara dari tanaman sablo (acalypha wilkesiana). *Farmaka*, 17(1), 50–57.
- Hassanpour, s. H., & doroudi, a. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna journal of phytomedicine*, 13(4), 354–376. <https://doi.org/10.22038/ajp.2023.21774>
- Irianti, t. T., kuswandi, nuranto, s., & purwanto. (2021). *Antioksidan dan kesehatan*. Gadjah mada university press. <https://books.google.co.id/books?id=maljeaaaqbaj>
- Islami, d., ramadhan, w., iballa, b. D. M., & siregar, e. D. (2024). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah matoa pometia pinnata j.r.forst. & g.forst. *Jurnal aisyyiah medika*, 9(1), 91–101.
- Islamiyati, r., mugitasari, d. ., nafiah, l. ., & jayanto, i. (2024). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun matoa menggunakan radikal bebas dpph

- (difenilpikrilhidrazil). *Pharmacon*, 13(2), 611–618.
<https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.55951>
- Kiromah, n. Z. W., husein, s., & rahayu, t. P. (2021). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ganitri (*elaecarpus ganitrus roxb.*) Dengan metode dpph (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) antioxidant activity test of ganitri (*elaecarpus ganitrus roxb.*) Leaf ethanol extract using the dpph (2,2 difenil-1-pikril. *Jurnal farmasi indonesia*, 18(1), 60–67.
<http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>
- Knapsack. (2025). *Knapsack family database*. <https://www.knapsackfamily.com>
- Kurnia, d., roni, a., & dwi rahayu, k. (2024). Kajian pustaka aktivitas tanaman kepuh (*sterculiafoetida l.*) Sebagai antioksidan alami literature review on the activity of kepuh plant (*sterculiafoetida l.*) As a natural antioxidant. *Journal of agrotechnology and food processing*, 4(1).
- Langi, j. H., wonggo, d., damongilala, l. J., montolalu, l. A. D. Y., harikedua, s. D., & makapedua, d. M. (2022). Flavonoid dan tanin ekstrak air subkritis benang sari dan kepala putik bunga mangrove *sonneratia alba*. *Media teknologi hasil perikanan*, 10(3), 157–164. <https://doi.org/10.35800/mthp.10.3.2022.40658>
- Lingga, s. M., rosa, y., & suryasini. (2025). Pengaruh tempat tumbuh terhadap kandungan metabolit sekunder tanaman daun sungkai (*parenema canescens jack*). *Jurnal kesehatan : jurnal ilmiah multi sciences*, 15(1), 72–80.
<https://doi.org/10.52395/jkjims.v15i1.479>
- Maryam, s., effendi, s., & shafira, n. (2024). Penetapan kadar senyawa alkaloid dan steroid total dari ekstrak etanol fraksi batang tebu telur (*saccharum edule hasskarl*). *Journal of pharmacopolium*, 7(3), 71–92.
- Moito, r. A. A., husain, r., & niai, a. S. (2023). Analisis kadar saponin dan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *sonneratia alba* dari perairan desa monano kabupaten gorontalo utara. *Jurnal ilmiah perikanan dan kelautan*, 11(2).
- Nisa, n. K., marliana, e., & erwin. (2024). Potensi aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun sungkai (*peronema canescens jack*) Potential antioxidant activity of methanol extract of sungkai leaves (*peronema canescens jack*). *Jurnal atomik*, 9(1), 19–24. <https://doi.org/10.30872/ja.v9i1.1277>
- Noman, a. M., sultan, m. T., maaz, m., mazhar, a., tariq, n., imran, m., hussain, m., mujtaba, a., abdelgawad, m. A., mostafa, e. M., ghoneim, m. M., selim, s., & al jbwai, e. (2025). Nutraceutical potential of anthocyanins: a comprehensive treatise. *Food science and nutrition*, 13(5), 1–22.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.70164>
- Norhaslinda, e., syahri, jufrizal, & perdana, v. (2023). Ekstraksi, fraksinasi, dan

- uji antioksidan daun pakis sawit (*davallia denticulata*). *Photon: jurnal sains dan kesehatan*, 13(2). <https://doi.org/10.37859/jp.v13i2.4116>
- Nurkhasanah, bachri, m. S., & yuliani, s. (2023). *Antioksidan dan stres oksidatif* (first). Uad press.
- Nwolisah, o. ., enemor, v. H. ., odili, c. ., echichanya, c. ., obih, m. ., & okochi, c. . (2024). View of evaluation of the proximate, mineral and vitamin compositions of *acalypha wilkesiana* leaf. *The bioscientist journal*, 12(1), 87–97.
- Oktavia, f. D., & sutoyo, s. (2021). Skrining fitokimia, kandungan flavonoid total, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan *selaginella doederleinii*. *Jurnal kimia riset*, 6(2), 141–153.
- Oyebode, o. A., erukainure, o. L., koorbanally, n. A., & islam, m. S. (2018). *Acalypha wilkesiana* “java white”: identification of some bioactive compounds by gc-ms and their effects on key enzymes linked to type 2 diabetes. *Acta pharmaceutica*, 68(4), 425–439. <https://doi.org/10.2478/acph-2018-0037>
- Paraswati, & subarnas, a. (2018). Review: aktivitas tanaman sablo (*acalypha wilkesiana* müll. arg.) sebagai antikanker serviks. *Farmaka*, 16(2), 33–41.
- Parida, r., panda, m. K., & behera, s. K. (2026). Phytosterols: natural compounds with multifaceted therapeutic potentials – a review. *Pharmacological research - natural products*, 10(january), 100586. <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2026.100586>
- Prabandari, a. A. S. S., udayani, n. N. W., triyansyah, g. A. P., dewi, n. P. E. M. K., widiasriani, i. A. P., & wulandari, n. L. W. E. (2024). Artikel review: aktivitas daun benalu (*dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) sebagai antioksidan dengan metode dpph (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Indonesian journal of pharmaceutical education*, 4(2), 275–285. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v4i2.26638>
- Putri, f. E., dihari, a., & karnila, r. (2023). Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada rumput laut coklat (*sargassum plagyophyllum*) dengan metode fraksinasi. *Jurnal teknologi dan industri pertanian indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Rahim, a. (2024). *Dari alam ke kulit “formulasi krim kacang lebu”* (first). Tohar media. <https://books.google.co.id/books?id=e7iveqaaqbaj>
- Rohma, h. K., winarti, l., & isnawati, n. (2025). Formulation, quality test, and antibacterial activity test of liquid soap of *acalifa* (*acalypha wilkesiana* müell.

- Arg.) Leaves on escherichia coli. *International journal of islamic and complementary medicine*, 6(2), 104–118.
<https://doi.org/10.55116/ijicm.v6i2.91>
- Rupar, j., popović-nikolić, m., nikolić, k., dobričić, v., čudina, o., & aleksić, m. M. (2025). Exploring the redox mechanism of 9-acridinyl amino acid derivatives by electrochemical and theoretical approach. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 265, 117062.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2025.117062>
- Sahumena, m. H., ruslin, asriyanti, & djuwarno, e. N. (2020). Identifikasi jamu yang beredar di kota kendari menggunakan metode spektrofotometri uv-vis. *Journal syifa sciences and clinical research*, 2(2), 65–72.
<http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr,e->
- Selviana, a. P., khoirotunnisa, u., ulandari, a. S., rahayu, i. D., & andrifanie, f. (2024). Pengaruh konsentrasi dan volume etanol terhadap rendemen ekstrak bunga telang (clitoria ternatea l.) Pada metode ekstraksi maserasi. *Jurnal kesehatan dan agromedicine*, 11(2), 94–100.
<https://doi.org/10.23960/jka.v11i2.pp94-100>
- Septiningrum, c. H., ariastuti, r., & ahwan, a. (2024). Uji skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun markisa ungu (passiflora edulis sims). *Jurnal farmasi syifa*, 2(2), 37–41. <https://doi.org/10.63004/jfs.v2i2.430>
- Simanjuntak, e., & zulham. (2020). Superoksida dismutase (sod) dan radikal bebas. *Jurnal keperawatan dan fisioterapi (jkf)ss*, 2(2), 124–129.
<https://doi.org/10.35451/jkf.v2i2.342>
- Siraj, m. A., shilpi, j. A., hossain, m. G., uddin, s. J., islam, m. K., jahan, i. A., & hossain, h. (2016). Anti-inflammatory and antioxidant activity of acalypha hispida leaf and analysis of its major bioactive polyphenols by hplc. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 6(2), 275–283.
<https://doi.org/10.15171/apb.2016.039>
- Taslina, t. Z., oktoba, z., ulandari, a. S., & iqbal, m. (2025). Analisis aktivitas antioksidan ekstrak daun katang-katang (ipomea pes caprae) dengan metode dpph : literature review. *Jurnal riset ilmu kesehatan umum dan farmasi*, 3(1), 203–212. <https://doi.org/10.57213/jrikuf.v3i1.594>
- Wahyuningsih, m. S. H., & rakhwamati, r. (2024). *Penemuan dan pengembangan senyawa obat dari bahan alam*. Ugm press.
<https://books.google.co.id/books?id=fnbeeqaqbaj>
- Wijaya, a., & noviana. (2022). Determination of the water content of basil leaves simplicia (ocimum basilicum l .) Based on different drying methods. *Jurnal riset kefarmasian indonesia*, 4(2), 185–199.