

Original Research

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TANIN TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.)

Adia Putra Wirman, Deny Rahmayani, Yeni

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka, Jakarta

Korespondensi: adia_putrawirman@uhamka.ac.id

Abstrak

Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) secara tradisional digunakan sebagai obat hipertensi, antidiabetik, dan antioksidan. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kandungan tanin yang memiliki gugus fenol dengan kemampuan menangkap radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar tanin total dari ekstrak etanol 70% daun Pletekan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode ABTS, sedangkan kadar tanin total dianalisis secara spektrofotometri menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan asam tanat sebagai standar. Hasil menunjukkan ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $215,07 \pm 11,65 \mu\text{g/mL}$ serta kadar tanin total sebesar $114,60 \pm 4,10 \text{ mg TAE/g}$. Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun Pletekan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang berkaitan dengan kandungan taninnya.

Kata kunci: Antioksidan, ABTS, *Ruellia tuberosa*, Ekstrak Etanol, Tanin Total

Abstract

Pletekan leaves (*Ruellia tuberosa* L.) have traditionally been used as remedies for hypertension, diabetes, and as antioxidants. These activities are presumed to be associated with the presence of tannins, which contain phenolic groups capable of scavenging free radicals. This study aimed to determine the antioxidant activity and total tannin content of the 70% ethanol extract of Pletekan leaves. Antioxidant activity was assessed using the ABTS method, while total tannin content was analyzed spectrophotometrically using the Folin–Ciocalteu reagent with tannic acid as the standard. The results showed that the extract exhibited antioxidant activity with an IC_{50} value of $215.07 \pm 11.65 \mu\text{g/mL}$ and a total tannin content of $114.60 \pm 4.10 \text{ mg TAE/g}$. In conclusion, the 70% ethanol extract of *Ruellia tuberosa* L. leaves shows potential as a natural antioxidant source, which is likely related to its tannin content.

Key words: Antioxidant, ABTS, *Ruellia tuberosa* L., Ethanol Extract, Total Tannin

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional. Pengobatan tradisional yang memanfaatkan bahan-bahan alami telah lama diakui oleh masyarakat karena dianggap lebih aman dibandingkan obat-obatan sintesis yang seringkali menimbulkan efek samping¹. Salah satu tanaman obat yang tumbuh subur di Indonesia adalah tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.).

Tanaman *Ruellia tuberosa* L. mengandung senyawa asam askorbat, fenol, tanin, likopen, carotenoid, tokoferol, saponin, glikosida dan flavonoid². Berbagai studi telah membuktikan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas farmakologis, antara lain antioksidan, antimikroba, aktivitas gastroprotektif, antikanker, aktivitas antiinflamasi, dan antinosiseptif. Selain itu tanaman ini juga dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi penyakit sifilis, kanker, bronkitis, penyakit jantung, hipertensi, demam, pilek, dan masalah pencernaan³. Daunnya diketahui mengandung senyawa polifenol yang dapat merangsang regenerasi sel beta pancreas sehingga berpotensi meningkatkan produksi insulin¹. Salah satu metabolit sekunder penting yang terkandung dalam tanaman pletekan adalah tanin². Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri, pengendapan protein, pengkhelat logam dan antioksidan⁴⁵.

Aktivitas antioksidan tanin berkaitan dengan keberadaan gugus fenol yang mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas. Radikal bebas sendiri merupakan molekul reaktif yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh, serta berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, dan penyakit kardiovaskular⁶.

Ekstraksi atau penyarian senyawa aktif dari bahan alam merupakan langkah awal dalam penelitian fitokimia. Proses ini melibatkan penggunaan pelarut yang sesuai untuk memisahkan senyawa target dari bahan tanaman, didikuti dengan pemisahan filtrate dari residu⁷.

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan penting dalam menangkal efek merusak dari radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas adalah molekul reaktif yang mengandung satu atau lebih electron tidak berpasangan, sehingga dapat merusak struktur seluler seperti lipid, protein, dan DNA⁸⁹. Akumulasi radikal bebas dikaitkan dengan berbagai kondisi patologis, termasuk penuaan dini, kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan *neurodegenerative*¹⁰. Antioksidan bekerja dengan menetralkan radikal bebas melalui donasi electron, sehingga mencegah terjadi stress oksidatif. Senyawa antioksidan dapat berasal dari dalam tubuh (endogen), seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, maupun dari luar tubuh (eksogen), seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan polifenol yang banyak

ditemukan dalam buah, sayuran, serta tanaman herbal. Oleh karena itu, konsumsi makanan kaya antioksidan atau suplemen senyawa antioksidan telah menjadi fokus penting dalam strategi pencegahan berbagai penyakit degeneratif¹¹.

Untuk mengukur aktivitas antioksidan ekstrak, salah satu metode yang umum digunakan adalah metode ABTS (*2,2-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*). Metode ini didasarkan pada reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal kation ABTS, yang ditandai dengan perubahan warna dari biru-hijau menjadi tidak berwarna, yang kemudian dapat diukur secara spektrofotometrik (10) (11).

Penentuan kadar tanin secara spektrofotometri umumnya dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu, yang mengukur kemampuan tannin mereduksi reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru. Sampel dicampur dengan reagen, ditambahkan natrium karbonat, dan diinkubasi, lalu absorbansi diukur pada 760 nm. Kadar tannin total dihitung berdasarkan kurva standard asam tanat, dan hasil dinyatakan sebagai mg TAE/g sampel.

Meskipun *Ruellia tuberosa* L. telah dikenal memiliki berbagai manfaat kesehatan dan kandungan tanin, masih terbatas penelitian yang secara spesifik mengkaji aktivitas antioksidan daun Pletekan menggunakan metode ABTS, serta belum adanya laporan terkait kandungan tanin total dalam ekstrak etanol 70%. Informasi kuantitatif ini penting

untuk memperkuat dasar ilmiah pemanfaatan tanaman ini sebagai sumber antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan metode ABTS, serta mengukur kadar total tanin menggunakan spektrofotometri.

METODE PENELITIAN

Penelitian merupakan *true experiment* untuk melihat aktivitas antioksidan dan kandungan total tannin dalam daun Pletekan. Sampel adalah daun Pletekan yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO) Bogor Jawa Barat. Dengan nomor identifikasi tanaman B-1669/III/KS.01.03/3/2021

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu simplisia daun Pletekan, etanol 70%, pereaksi Na_2CO_3 p.a (Merck), FeCl_3 (Merck), *FolinCiocalteu* (Merck), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, NaCl 10 %, gelatin 1 %, Mg, pereaksi Mayer, Bouchardat, Dragendorff, etanol p.a (Merck), asam tanat, asam askorbat, asam sulfat, ABTS (SIGMA-ALDRICH) dan aquadest.

Alat

Alat yang digunakan anatara lain seperangkat alat gelas, ultrasonic (Branson-5510), timbangan analitik (OHAUS), spektrofotometer UV-Vis (Shimidzu UV-1601), mikro pipet (Eppendorf), vacuum rotary evaporator (EYELA), waterbath, ayakan dengan mesh no 40(ABM), aluminium foil, kertas saring, pipet tetes, hot plate, sarung tangan dan peralatan lain yang biasa digunakan di laboratorium.

Metode

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan)

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia daun pletekan sebanyak 50 g dalam 500ml pelarut etanol 70% 1:10 (b/v). Campur dan rendam simplisia dan pelarut dalam satu Beaker glass, tutup Beaker glass dengan aluminium foil agar tidak menguap. Ekstraksi sonikasi dilakukan pada frekuensi 42 kHz. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring untuk memisahkan pelarut dengan ampasnya kemudian dilakukan kembali pengestrakan residu yang didapat dengan dengan pelarut yang baru sampai tiga kali, sehingga diperoleh ekstrak dengan pelarut. Pelarut diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* suhu 50 °C, sehingga didapatkan ekstrak kental daun Pletekan.

Pemeriksaan Organoleptis

Pada pemeriksaan organoleptis ini meliputi pemeriksaan berupa bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak daun pletekan¹².

Uji Kualitatif Ekstrak

Tanin: Sebanyak 3 g ekstrak dipanaskan dengan akuades panas kemudian didinginkan dan disaring, setelah itu bagi menjadi 2 bagian, filtrat A dan filtrat B. Filtrat A ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃, hasil positif menunjukkan warna hijau kehitaman. Filtrat B ditambahkan 5 tetes NaCl 10 % dan gelatin, hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan putih. Kemudian diamati perubahan yang terjadi¹³.

Flavonoid : Uji Shinoda ekstrak yang kering ditambahkan 2- 3 tetes etanol, kemudian tambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida 5M. Warna merah hingga merah lembayung yang terbentuk menunjukkan positif adanya senyawa flavonoid⁷

Alkaloid: Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan metode Mayer, Wagner dan Dragendorff. Sebanyak 3 g ekstrak diletakkan dalam cawan ditambahkan 5 ml HCl 2 M, diaduk dan didinginkan. Ditambahkan 0,5 g NaCl lalu diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian dipisahkan menjadi 3 bagian A, B, C. Filtrat A ditambah pereaksi Mayer, filtrat B ditambah pereaksi Wagner, filtrat C diuji dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid¹⁴.

Fenol: Pengujian senyawa fenol dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan FeCl₃ 1 %, dimana reaksi positif terjadi jika terdapat perubahan warna hijau, ungu, biru, dan hitam¹⁵.

Steroid dan Terpenoid: Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dengan etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi diatas penangas air, kemudian dinginkan dan saring lalu diuapkan. Setelah kering, ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄(p). hasil positif terpenoid berwarna merah atau ungu¹⁴.

Saponin: Ekstrak ditimbang 0,5 g ditambahkan 10 ml air panas kemudian dinginkan, kocok kuat-kuat selama 10 detik hingga terbentuk buih ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Hasil positif

terbentuk buih yang mantap menunjukkan saponin¹⁴.

Penetapan Susut Pengerinan Ekstrak: Ekstrak ditimbang 1-2 g dalam botol timbang bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan 105°C, ditara. Bahan diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga lapisan setebal lebih kurang 5 sampai 10 mm kemudian masukkan dalam ruang pengering, buka tutupnya keringkan pada suhu penetapan 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu ruang¹⁶.

Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Pletekan: Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metoda ABTS.

Larutan ABTS 7 mM: Ditimbang teliti 80 mg ABTS dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas¹⁷.

Larutan stok ABTS: Larutan ABTS kemudian dicampurkan dengan 10 ml larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM dan diinkubasi selama 16 jam dalam ruang gelap pada suhu kamar (22-25 °C) sebelum digunakan, dihasilkan ABTS dengan warna biru gelap¹⁷.

Larutan induk standar Asam askorbat: Asam askorbat Ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas(1000 ppm). Untuk mendapatkan larutan induk asam askorbat dengan konsentrasi 100 ppm, dilakukan dengan cara memipet 10 ml dari asam askorbat 1000 ppm,

masukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan dengan etanol 70% sampai tanda batas.

Kurva Baku Asam Tanat: Kedalam 5 labu ukur 10 ml dimasukkan larutan induk asam tanat hingga diperoleh konsentrasi 9; 15,5; 22; 28,5; dan 35 µg/ml, ditambahkan 1,5 ml pereaksi *Folin-Ciocalteu*, dikocok. Diamkan selama 3 menit lalu masing- masing larutan ditambah 1,2 ml larutan Na_2CO_3 7,5% dikocok homogen dan dicukupkan aquadest sampai tepat 10 ml, dibaca pada waktu 50 menit. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 673,50 nm. Hasil pembacaan absorbansi antara konsentrasi asam tanat – *Folin Ciocalteu* digunakan untuk memperoleh kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier $y = bx \pm a$ yang digunakan untuk mengetahui kadar tanin total ekstrak etanol 70% daun Pletekan¹⁵.

Penetapan Kadar Tanin Total: Ekstrak etanol 70% daun Pletekan ditimbang sebanyak 1,0 g dilarutkan dengan 10 ml air panas, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dikocok dan ditepatkan volumenya dengan akuades. Larutan baku induk ekstrak dipipet 1,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditambahkan pereaksi *Folin- Ciocalteu* 15 ml, diamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 12 ml larutan Na_2CO_3 7,5 % dikocok homogen, dicukupkan dengan akuades sampai tanda batas 100 ml dan dibaca pada waktu 21- 25 menit. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 673,50 nm.

Analisis Data: Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Pletekan metode peredaman radikal bebas ABTS dihitung dengan menentukan *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linear menggunakan program *Microsoft Excel*.

Penetapan kadar tanin total pada ekstrak etanol daun Pletekaan, analisis data dengan persamaan regresi linear menggunakan program *Microsoft Excel* kemudian dihitung kadar tanin total.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Daun Pletekan

Sampel diekstraksi secara sonikasi dengan memanfaatkan getaran ultrasonik pada frekuensi 42 kHz selama 30 menit pada suhu 50 °C dengan perbandingan 1:10 yaitu 50 g serbuk simplisia daun pletekan dalam 500 ml etanol 70% dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sampai didapat hasil negatif terhadap FeCl₃, hal ini dilakukan agar penarikan senyawa tanin lebih optimal. Hasil ekstraksi secara sonikasi dengan pelarut alkohol 70% daun pletekan memiliki rendemen 11, 47 ± 0,40 % (Tabel 1).

Pemeriksaan organoleptik simplisia dan ekstrak daun pletekan dilakukan untuk mengetahui karakteristik berupa bentuk, bau, rasa, dan warna yang dapat dideskripsikan menggunakan panca indra. Hasil organoleptis menunjukkan bahwa serbuk daun pletekan memiliki bentuk halus yang berbau khas rasa pahit dengan warna hijau sedangkan ekstrak daun pletekan memiliki bentuk kental dengan bau yang khas serta rasa pahit dengan warna coklat pekat. Hasil karakteristik ekstrak dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakteristik Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan

Parameter	Pengamatan	Hasil
Rendemen	Berat ekstrak yang didapat	11, 47 ± 0,40 %
Susut pengeringan	Berat tetap setelah pengeringan suhu 105 °C	5,98±0,30%
Organoleptik	Warna	Cokelat kehijauan
	Bau	khas
	Rasa	Khas
	Bentuk	Kental

Penetapan susut pengeringan ekstrak dilakukan untuk mengetahui jumlah air dan senyawa menguap lainnya yang ada di dalam ekstrak. Hasil yang didapat yaitu sebesar $5,98 \pm 0,30\%$. Hasil susut pengeringan ekstrak etanol 70% tanaman ini menunjukkan kurang dari 10%, artinya ada senyawa menguap lainnya seperti minyak atsiri, selain itu kandungan air yang terdapat pada ekstrak masih cukup banyak, yang dapat menjadi media pertumbuhan mikroba, dan akan terjadi reaksi enzimatik yang dapat menguraikan zat

aktif yang mengakibatkan penurunan mutu ataupun kerusakan simplisia dan perlu dilakukan penetapan kadar air. Dengan kandungan air yang sedikit akan mencegah kemungkinan pertumbuhan jamur¹⁸ (17).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak sebagai identifikasi dan informasi untuk memastikan adanya senyawa kimia terutama tanin yang ingin diteliti. Hasil uji kualitatif ekstrak daun pletekan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisa Kualitatif Ekstrak

Identifikasi	Pengamatan	Hasil
Tanin	Pada gelatin + NaCl Terbentuk endapan putih Pada penambahan FeCl ₃ berubah warna hijau kehitaman	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah	+
Alkaloid	Terbentuk endapan putih (Mayer) Terbentuk endapan kuning kecoklatan (Bouchardat)	+
Fenol	Terbentuk warna hijau kehitaman(FeCl ₃)	+
Steroid	Tidak terbentuk warna	-
Terpenoid	Tidak terbentuk warna	-
Saponin	Tidak terbentuk buih yang stabil	-

Keterangan : (+) positif, (-) negatif

Hasil ini sejalan dengan laporan penelitian sebelumnya yaitu ekstrak daun Pletekan mengandung tannin, flavonoid, fenolik, dan alkaloid.

Uji Aktivitas Antioksidan metode ABTS

Ekstrak etanol daun pletekan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode

peredaman radikal bebas ABTS dengan asam askorbat sebagai kontrol positif. Pengujian antioksidan metoda ABTS yang menggunakan prinsip inhibisi, yaitu sampel ditambahkan pada sistem penghasil radikal bebas diukur untuk menentukan total kapasitas antioksidan (20). Metode dengan ABTS dapat digunakan untuk

mengetahui konsentrasi antioksidan yang mampu menghambat radikal bebas sebanyak 50% (IC₅₀). Hasil observasi penentuan panjang gelombang maksimum pada ABTS menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan absorbansi larutan ABTS yang didapat yaitu 0.7086 dengan panjang gelombang 739,50 nm, dari hasil serapan yang diperoleh sesuai dengan panjang gelombang warna komplementer ABTS yaitu 610-750 nm. Fitriana et al, (2015) melaporkan bahwa panjang gelombang maksimum ABTS yang didapatkan sebesar 734 nm sehingga panjang gelombang yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan hasil dari penelitian sebelumnya¹⁹.

Penentuan aktivitas antioksidan pada asam askorbat dan ekstrak etanol 70% daun pletekan dengan metode ABTS dapat dilihat nilai IC₅₀ pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ Asam Askorbat dan Ekstrak Etanol Metode ABTS

No	Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)
1	Asam Askorbat	9,09 ± 0,42
2	Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan	215,07 ± 11,65

Hasil absorbansi yang didapatkan, kemudian diinterpretasikan dalam nilai *Inhibitory Concentration of 50%* (IC₅₀). Perhitungan persentase peredaman berdasarkan persamaan 1

$$\% \text{ Peredaman} = (AK-AS)/AK \times 100\% \dots\dots\dots 1$$

Keterangan:

AK: absorbansi Kontrol/balnko

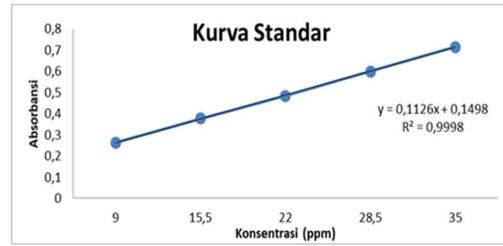
AS: Absorbansi sampel

Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi substrat yang mampu meredam 50% aktivitas dari radikal bebas²⁰. Menurut Molyneux, (2004) nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan, dengan semakin tinggi aktivitas antioksidan maka nilai IC₅₀ semakin rendah²⁰. Dalam uji aktivitas antioksidan menggunakan ABTS ini, asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan murni yang telah terbukti efektif dan stabil dalam menangkap radikal bebas, seperti radikal bebas ABTS²¹. Asam askorbat bekerja sebagai donor elektron yang mampu mereduksi radikal menjadi bentuk non-reaktif, sehingga menjadi standard pembanding yang valid untuk digunakan dalam mengevaluasi potensi antioksidan suatu ekstrak²². Berdasarkan data pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa hasil analisis menunjukkan asam askorbat dan ekstrak etanol daun pletekan memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut 9,09 ± 0,42 µg/ml dan 215,07 ± 11,65 µg/ml. Berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan, asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat sedangkan ekstrak etanol daun Pletekan memiliki intensitas antioksidan dalam kategori sedang karena nilai IC₅₀ berada diantara 100-250²³. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 70% daun pletekan memiliki aktivitas antioksidan yang sedang.

Penetapan Kadar Tanin Total

Penetapan kadar tannin total menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pengukuran pada spektrofotometri dalam daerah cahaya tampak (380-780 nm)¹⁵. Pada percobaan ini digunakan reagen *Follin Ciocalteu* sebagai pereaksi dan Asam tanat sebagai standar. Reagen *Follin Ciocalteu* yang berwarna kuning kehijauan akan berubah warna menjadi biru tua apabila direaksikan dengan larutan standar atau sampel yang telah ditambahkan dengan natrium karbonat jenuh agar terjadi reaksi reduksi *Follin Ciocalteu* oleh gugus hidroksil²⁴.

Penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan asam tanat dan pereaksi Folin-Ciocalteu adalah 673,50 nm dengan konsentrasi 20 ppm dari baku induk asam tanat 1000 ppm, hasil pembacaan yang diperoleh digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi standar asam tanat. Panjang gelombang ini adalah panjang gelombang yang diserap oleh warna komplementer biru kehitaman yang terjadi antara asam tanat dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*²⁵. Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi asam tanat dengan serapan. Kurva kalibrasi asam tanat dibuat dengan rentang deret standar dengan konsentrasi berseri. Dari larutan standar asam tanat 1000 ppm dibuat seri larutan dengan konsentrasi yaitu 9; 15,5; 22; 28,5; dan 35 ppm yang sebelumnya dihitung dengan menggunakan rumus *Lamber-beer*.



Gambar 1. Hasil Kurva Kalibrasi Asam Tanat

Berdasarkan data yang didapat pada gambar 1, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka serapannya makin besar. Persamaan kurva baku yang diperoleh dari konsentrasi larutan asam tanat yaitu $y = 0.0173x + 0.1065$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9998. Nilai koefisien korelasi yang didapat mendekati nilai satu, maka persamaan regresi tersebut adalah linier dengan simpangan baku kecil menunjukkan ketepatan yang tinggi, artinya kedua variable memiliki hubungan yang semakin kuat. Sehingga persamaan menghasilkan kurva garis linear.

Dari hasil kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier dapat digunakan sebagai evaluasi nilai serapan dari larutan sampel untuk mengetahui kadar tanin total dalam ekstrak etanol 70% daun Pletekan. Hasil analisis kadar tannin dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam tanat (TAE)/g. Didapatkan nilai kandungan tanin total yaitu dalam setiap g ekstrak etanol daun pletekan mengandung sebesar $114,61 \pm 4,10$ mg TAE/g.

Struktur kimia senyawa tanin berperan penting dalam menentukan tingkat aktivitas antioksidan suatu ekstrak, karena tanin merupakan senyawa polifenol yang kaya akan

gugus hidroksil aromatik yang mampu menangkap dan menstabilkan radikal bebas²⁶. Tanin dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu tanin terhidrolisis (seperti gallotanin dan ellagitannin) yang lebih mudah terdegradasi, dan tanin terkondensasi (seperti proantosianidin) yang lebih stabil dan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi karena memiliki gugus fenolik dan struktur polimer yang kompleks^{27,28}. Selain itu, tanin juga mampu menkhelasi logam pro-oksidan seperti Fe²⁺ dan Cu²⁺, sehingga membantu mencegah pembentukan radikal bebas²⁹. Dengan demikian, struktur dan jenis tanin menjadi faktor penting dalam menentukan potensi antioksidan suatu ekstrak.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh pada tanaman *Ruellia tuberosa* L. dengan metode ekstraksi sonikasi dapat disimpulkan bahwa setiap 1 g ekstrak daun pletekan mengandung 114,61 ± 4,10 mg TAE/g. Sedangkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ABTS terhadap ekstrak etanol 70% daun dengan nilai IC₅₀ 215,07 ± 11,65 µg/ml, hal ini pletekan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kategori sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan

Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nopiari, Ida Ayu, Ni Putu, A. A., dan Ngrurah IW. Identifikasi Senyawa Aktif Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) Dengan Menggunakan Gc-MS. *Symbiosis J Biol Sci.* 2016;4(2):55–7.
2. Manikandan a, Doss DVA, Nadu T. Evaluation of biochemical counters, nutritional value, trace elements, SDS-PAGE and HPTLC profiling in the leaves of *Ruellia tuberosa* L. and *Dipteracanthus patulus* (Jacq.). *J Chem Pharm Res.* 2010;2(3):295–303.
3. Chothani, D. L., Patel, M. B., Mishra, S. H., dan Vaghasiya HU. Review on *Ruellia tuberosa* (Cracker plant). *Pharmacogn J.* 2010;2(12):506–512.
4. Malanggi, L., Sangi, M., & Paendong J. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) No Title. *J MIPA.* 2012;1(1):5.
5. Hagerman AE, Robbins CT, Weerasuriya Y, Wilson TC, McArthur C. Tannin Chemistry in Relation to Digestion. *J Range Manag.* 1992;45(1):57.
6. Renzo L Di, Gualtieri P, Romano L, Marrone G, Noce A, Pujia A, et al. Role of Personalized Nutrition in Chronic-Degenerative Diseases. *Nutrients.* 2019;11:1–24.
7. Hanani E. Analisis Fitokimia. Jakarta: EGC; 2015.
8. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 2004;142(2):231–55.
9. Rubio CP, Hernández-Ruiz J, Martínez-Subiela S, Tvarijonavičiute A, Ceron JJ. Spectrophotometric assays for total

- antioxidant capacity (TAC) in dog serum: An update. *BMC Vet Res.* 2016;12:1–7.
10. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. Vol. 2, *Oxygen.* 2022.
 11. Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Juan CA, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. Antioxidant Metabolism Pathways in Vitamins, Polyphenols, and Selenium: Parallels and Divergences. Vol. 25, *International Journal of Molecular Sciences.* 2024.
 12. Departeman Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia Jilid 1. Farmakope Herbal Indonesia.* 2017. 5–6 p.
 13. Marlina SD, Suryanti V, Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq . Swartz .*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi.* 2005;3(1):26–31.
 14. Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *J Ilm Cendekia Eksakta.* 2019;56–62.
 15. Agustina T, Sunyoto, Anita A. Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Sirih Merah [(*Piper Crocatum Ruiz dan Pav*)] Secara Spektrofotometri UV - Vis. *CERATA J Pharm Sci.* 2014;5(1):41–9.
 16. Departeman Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I.* Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.; 2008.
 17. Novi Fajar Utami, M.Farm. A. Potensi antioksidan dari Biji Kopi Robusta 9 Daerah di Pulau Jawa. 1st ed. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Pakuan; 2020.
 18. Utami YP, Umar AH, Syahrini R, Kadullah I. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *J Pharm Med Sci.* 2017;2(1):32–9.
 19. Fitriana WD, Fatmawati S, Ersam T. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. *SNIP Bandung.* 2015;2015(Snips):658.
 20. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol.* 2004;26(May):211–9.
 21. Kut K, Cieniek B, Stefaniuk I, Bartosz G, Sadowska-Bartosz I. A Modification of the ABTS• Decolorization Method and an Insight into Its Mechanism. *Processes.* 2022;10(7).
 22. Santos KLB, Bragança VAN, Pacheco L V., Ota SSB, Aguiar CPO, Borges RS. Essential features for antioxidant capacity of ascorbic acid (vitamin C). *J Mol Model.* 2022;28(1).
 23. Lung JP., Destiani D. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka.* 2018;15(1):53–62.
 24. Pérez M, Dominguez-López I, Lamuela-Raventós RM. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *J Agric Food Chem.* 2023;71(46):17543–53.
 25. Pratama M, Razak R, Rosalina VS. Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *J Fitofarmaka Indones.* 2019;6(2):368–73.
 26. Wang Z, Liu Z, Wu C, Liu S, Wang D, Hu C, et al. Computational Analysis on Antioxidant Activity of Four Characteristic Structural Units from Persimmon Tannin. *Materials (Basel).* 2023;16(1).

27. Xia S, Wei Z, Kong X, Jia B, Han S. Antioxidative properties of bayberry tannins with different mean degrees of polymerization: Controlled degradation based on hydroxyl radicals. *Food Res Int.* 2022;162.
28. Jiang Y, Zhang H, Qi X, Wu G. Structural characterization and antioxidant activity of condensed tannins fractionated from sorghum grain. *J Cereal Sci.* 2020;92.
29. Zhang L, Zhang H, Tang L, Hu X, Xu M. Isolation, Characterization, Antioxidant Activity, Metal-Chelating Activity, and Protein-Precipitating Capacity of Condensed Tannins from Plum (*Prunus salicina*) Fruit. *Antioxidants.* 2022;11(4).