



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: [current.biochemistry@gmail.com](mailto:current.biochemistry@gmail.com)

**CB** Current  
Biochemistry

## Skrining Fitokimia, Kadar Total Flavonoid dan Antioksidan Daun Cocor Bebek

Phytochemical Screening, Total Flavonoids and Antioxidants of *Kalanchoe Pinnata* Linn. Leaves

Eka Nurul Qomaliyah<sup>1\*</sup>, Nurul Indriani<sup>1</sup>, Atika Rohma<sup>2</sup>, Ricka Islamiyati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Bumigora, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Cendekia Utama Kudus, Indonesia

Received: 27 May 2023 ; Accepted: 20 July 2023

\*email korespondensi: [eka@universitasbumigora.ac.id](mailto:eka@universitasbumigora.ac.id)

### ABSTRACT

*Kalanchoe pinnata* Linn. or in Indonesia known as cocor bebek, grow well in temperate and tropical regions. Cocor bebek is used to treat several diseases including skin diseases, wound healing, kidney stones, gallstones, diabetes. The pharmacological activities of cocor bebek leaves have been reported as antiinflammatory, antioxidant and antimicrobial. The objective of this study is to determine the metabolite content of cocor bebek leaves, total flavonoid levels and antioxidant activity. Observations of secondary metabolites of cocor bebek leaves were carried out through qualitative secondary metabolite screening, while total flavonoid levels were measured using quantitative UV-VIS spectrophotometry with quercetin as a comparison, and antioxidant activity through DPPH molecular inhibition testing. The results of this study indicate that cocor bebek leaves contain alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids, tannins and phenols. Extraction using 200 g of cocor bebek leaves resulted in yield of 14.63%. The total favonoid content obtained was 8.77% of quercetin, while the antioxidant inhibition of DPPH molecules obtained IC50 of 97.42 ppm.

**Keywords:** Antioxidant activity, DPPH, Flavonoid, *Kalanchoe pinnata* (Linn.)

### ABSTRAK

*Kalanchoe pinnata* atau di Indonesia di kenal dengan sebutan tanaman cocor bebek tumbuh dengan baik di wilayah beriklim sedang dan tropis. Cocor bebek digunakan untuk mengobati beberapa penyakit diantaranya penyakit kulit, penyembuhan luka, batu ginjal, batu empedu, diabetes. Aktivitas farmakologis daun cocor bebek yang pernah dilaporkan sebagai antiinflamasi, antioksidan dan antimikroba Tujuan dari penelitian ini yakni untuk mengetahui kandungan metabolit daun cocor bebek, kadar total flavonoid serta aktivitas antioksidan. Pengamatan metabolit sekunder daun cocor bebek dilakukan melalui skirining metabolit sekunder kualitatif, sementara kadar total flavonoid dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan kuersetin sebagai pembanding, aktivitas antioksidan melalui pengujian inhibisi molekul DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun cocor bebek mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan fenol. Ekstraksi menggunakan 200 g daun cocor bebek menghasilkan rendemen sebesar 14,63%. Kadar total favonoid yang diperoleh yakni sebesar 8,77% kuersetin, sementara antioksidan peredaman molekul DPPH diperoleh IC50 sebesar 97,42 ppm.

**Kata kunci:** Aktivitas antioksidan, DPPH, Flavonoid, *Kalanchoe pinnata* (Linn.)

## 1. PENDAHULUAN

Sumber daya alam hayati di Indonesia sangat melimpah. Kekayaan jumlah tanaman Indonesia yang mendiami hutan hujan tropis wilayah Indonesia diperkirakan sebanyak 28.000 spesies tanaman, sekitar 6.000 spesies tanaman merupakan tanaman obat (Elfahmi et al., 2014). Secara empiris, masyarakat Indonesia mengenal pengobatan menggunakan herbal atau obat tradisional sejak lama (Bustanussalam, 2016). Tantangan terbesar pemanfaatan tanaman obat di Indonesia, yakni masih sedikitnya pembuktian ilmiah yang komprehensif dimulai dengan pengujian praklinik dasar seperti determinasi metabolit sekunder yang memiliki potensi bioaktivitas, kadar metabolit sekunder secara kuantitatif hingga pengujian bioaktivitas. Tahap awal ini akan mendorong pengembangan pengobatan tradisional berdasarkan standar ilmiah yang akan berkontribusi pada kemandirian kesehatan.

Penyakit-penyakit sindrom metabolik saat ini semakin meningkat seiring dengan perubahan gaya hidup. Berdasarkan WHO sindrom metabolik ditandai dengan lima parameter yakni kadar gula darah yang tinggi, keadaan obesitas sentral, tekanan darah tinggi, kadar gliserida dan kadar high density lipoprotein (HDL) (Saklayen, 2018). Kondisi sindrom metabolik yang tidak terkontrol memicu pembentukan radikal bebas yang berlebih melalui pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang semakin memperparah kondisi kesehatan (Hasim et al., 2020; Maritim et al., 2003). Radikal bebas yang terbentuk mampu menyerang asam lemak tak jenuh ganda yang akan menghasilkan radikal lipid reaktif dan beracun, pembentukan ini akan memicu komplikasi diabetes (Matough et al., 2012), mendorong risiko penyakit vaskular sistemik, penyakit jantung, retinopati dan kerusakan ginjal (Halliwell, B., Gutteridge, J.,M., 1999). Molekul radikal bebas mampu dihambat oleh antioksidan. Banyak tanaman baik sayur-sayuran maupun buah-buahan merupakan sumber antioksidan alami, potensi antioksidan alami yang dimiliki tanaman karena adanya kandungan fenolik dan flavonoid (Ruslan et al., 2018).

Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*

Linn.) merupakan salah satu tanaman dari suku Crassulaceae yang tumbuh dengan baik didaerah beriklim sedang dan tropis. Cocor bebek umumnya digunakan sebagai tanaman hias (Pinilih & Hidayat, 2014; Kistanti H, 2012), namun juga berkhasiat mengobati bisul, penyembuhan luka, rematik, penyakit kulit, batu empedu, batu ginjal, diabetes (Okwu & Nnamdi, 2011; Prasad et al., 2014; Sharker et al., 2012; Verma et al., 2014). Aktivitas farmakologi dari daun cocor bebek juga telah dilaporkan sebagai antikanker, antivirus, antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan (Bhatti et al., 2012; Okwu & Nnamdi, 2011; Rajsekhar et al., 2016; Singh et al., 2019).

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui bahwa daun cocor bebek memiliki kandungan metabolit sekunder diantaranya alkaloid, fenol, flavonoid, dan saponin (Singh et al., 2019). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, metanol daun cocor bebek terhadap radikal bebas 2,2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) yakni sebesar 69,84% dan 78,56% secara berurutan (Bhairappa et al., 2016). Sementara, aktivitas ekstrak etanol dan cocor bebek berdasarkan lainnya memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 282.136±0.46µg/mL (Ashfak et al., 2016). Maka perlu untuk menganalisis secara komprehensif kandungan metabolit sekunder cocor bebek secara kualitatif, pengujian kadar total flavonoid secara kuantitatif serta analisis antioksidan, sehingga dapat diketahui potensi antioksidan daun cocor bebek. Pengukuran kuantitatif kadar total flavonoid dan antioksidan pada penelitian diawali tahapan penentuan gelombang maksimum serapan dan waktu inkubasi maksimal untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

## 2. METODOLOGI

### Preparasi sampel

Daun cocor bebek diambil sebanyak 3 kg, dicuci bersih dengan air mengalir. Daun cocor bebek yang telah dibersihkan kemudian dipotong kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan selama 6 hari. Daun cocor bebek kering di haluskan dengan ukuran 100 mesh.

## **Ekstraksi**

Sebanyak 200 gram serbuk daun cocor bebek diambil dan dimasukkan ke dalam wadah ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi sederhana, yakni dengan merendam daun cocor bebek menggunakan pelarut etanol 96% 2000 mL (1:10). Wadah ekstraksi ditutup rapat dan disimpan di tempat yang tidak terpapar sinar matahari selama 2 x24 jam, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Remaserasi dilakukan kembali sebanyak 2x untuk memaksimalkan pengambilan metabolit sekunder dari serbuk daun cocor bebek. Maserat disaring menggunakan kertas saring, kemudian dilanjutkan dengan penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 60 °C .

## **Analisis Fitokimia**

Adapun senyawa yang diidentifikasi secara kualitatif keberadaannya dalam sampel pada penelitian ini yakni senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenol, flavonoid, triterpenoid dan steroid. Adapun pengujian dilakukan berdasarkan Nurcholis et al. (2023) dengan modifikasi.

### **Uji Alkaloid**

Sebanyak 0.5 g ekstrak daun cocor bebek dilarutkan dalam etanol 70% ditambah 1 mL HCl dan 3 mL aquades, dipanaskan di atas penangas air selama dua menit, lalu didinginkan dan disaring. Tiga tetes filtrat diambil dan dua tetes pereaksi Dragendrof ditambahkan. Terbentuknya warna jingga menunjukkan hasil yang positif adanya senyawa alkaloid.

### **Uji Saponin**

Sebanyak 1 mL ekstrak daun cocor bebek yang telah dilarutkan dalam 70% etanol ditambahkan 10 ml aquadest panas, didinginkan kemudian dikocok selama 10 detik. Terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan hasil positif adanya senyawa saponin (Tiwari et.al., 2017).

### **Uji Fenol**

Sebanyak 1mL ekstrak cair daun cocor

bebek yang telah dilarutkan dengan etanol 70% ditambahkan dengan tiga tetes larutan FeCl<sub>3</sub> konsentrasi 5%. Apabila terbentuk warna ungu kehitaman menunjukkan hasil positif adanya senyawa fenol.

### **Uji Flavonoid**

Sebanyak 1mL ekstrak daun cocor bebek yang telah dilarutkan etanol 70%, kemudian ditambahkan sedikit bubuk logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna jingga-kemerahan menunjukan adanya senyawa flavonoid.

### **Uji Tanin**

Ekstrak etanol daun cocor bebek ditimbang sebanyak 20 mg, ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Reaksi positif senyawa tanin ditandai dengan adanya warna hijau kehitaman (Safitri et.al., 2013)

### **Uji Triterpenoid dan Steroid**

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel daun cocor bebek yang telah dilarutkan dengan etanol 70% ditambah dengan pereaksi Lieberman Buchard, dibiarkan 15 menit. Campuran yang dibuat kemudian dipipet 6 tetes dan larutan dipindahkan ke tabung reaksi lain ditambah 2 sampai 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Reaksi positif adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah-jingga atau ungu, sementara reaksi positif adanya senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid sedangkan terbentuknya warna biru (Dewi et.al., 2017).

### **Kadar Total Flavonoid**

#### **Preparasi larutan baku kuersetin**

Larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm disiapkan dengan cara 0,05 g kuersetin dilarutkan dengan etanol 96% hingga, ditera hingga volume 50 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan deret konsentrasi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, dan 200 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 0,5 mL. Selanjutnya, ditambahkan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 mL CH<sub>3</sub>COONa 1 M dan 2,80 mL aquades. Campuran

dihomogenkan lalu dibiarkan selama 10 menit, kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis (Chang, 2002).

### **Penentuan panjang gelombang maksimum analisis flavonoid**

Salah satu konsentrasi larutan baku yang disiapkan diambil untuk penentuan panjang gelombang maksimum. Konsentrasi yang dipilih yakni konsentrasi 120 ppm karena berada pada deretan tengah. Panjang gelombang maksimum ditentukan melalui pengukuran pada panjang gelombang 400-550 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum menunjukkan tingkat serapan yang tinggi (Winahyu et al., 2019).

### **Penentuan waktu inkubasi optimal analisis flavonoid**

Komponen larutan yang akan di uji sama seperti pada penentuan panjang gelombang maksimum, akan tetapi dibuat 5 tabung pengukuran dengan lama waktu inkubasi yakni 5, 10, 15, 20, 25 menit. Adapun panjang gelombang yang digunakan yakni panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari tahapan sebelumnya (Molyneux, 2004).

### **Pembuatan kurva baku kuersetin**

Kurva baku dibuat dengan menghubungkan hasil pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum (serapan pada ordinat dan konsentrasi kuersetin pada absis) dengan konsentrasi larutan standar (Winahyu et al., 2019).

### **Analisis total flavonoid secara kuantitatif**

Analisis kuantitatif flavonoid dilaksanakan menggunakan metode kalorimetri dengan aluminium klorida berdasarkan prosedur Chang *et al.* (2002). Ekstrak etanol daun cocor bebek ditimbang 10 mg dilarutkan dengan etanol p.a hingga 10 mL (1000 ppm). Kemudian dipipet 0,5 mL ditambahkan 1,5 mL etanol pa, 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M dan 2,80 mL aquadest. Setelah campuran dikocok hingga homogen, dicampur dengan benar, tunggu selama 30 menit. Kemudian, gunakan spektrofotometer

ultraviolet-visible (UV-Vis) dengan panjang gelombang maksimum untuk mengukur serapannya. Masing-masing sampel dilakukan secara triplikate. Persamaan garis kurva standar kuersetin digunakan untuk menentukan konsentrasi sampel dalam pengujian total flavonoid berdasarkan absorbansi yang diperoleh.

Total flavonoid dinyatakan dalam persen, adapun perhitungannya sebagai berikut:

$$\text{Total flavonoid QE} \left( \text{mg} \frac{\text{QE}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{kadar flavonoid} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times \text{volume ekstrak (L)} \right)}{\text{Bobot ekstrak (g)}}$$

### **Antioksidan DPPH**

#### **Pembuatan Larutan Induk dan larutan blanko DPPH**

Sebanyak 4mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL etanol 96% dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 0,2 mM. Labu ukur dilapisi aluminium foil agar terlindung dari cahaya dan sinar matahari langsung (Anwan et al., 2022). Sebagai persiapan larutan blanko diambil larutan induk 0,2 mM sebanyak 1 mL, ditera ke dalam labu ukur 5 mL dengan etanol 96% (Novita et al., 2021).

#### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Disiapkan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM, kemudian diambil 1 mL untuk dimasukkan dalam labu ukur 5 mL ditambah etanol 96% hingga tanda batas dan dihomogenkan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-600 nm (Puspitasari, 2016).

#### **Penentuan *Operating Time***

Ekstrak etanol daun cocor bebek dan larutan kontrol positif kuersetin 50 ppm (1:1) ditambahkan dengan larutan induk DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL ditera dengan penambahan pelarut etanol 96%. Komponen larutan dikocok sampai homogen kemudian diamati absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum setiap 5 menit hingga 35 menit. Penentuan *Operating time* yakni ketika diperoleh absorbansi yang stabil (Puspitasari, 2016).

### Penentuan aktivitas antioksidan DPPH

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol cocor bebek dilarutkan dengan etanol pekat (96%) dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan sampai tanda batas hingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk diambil sebanyak 0,6 mL, 0,7 mL, 0,8 mL, 0,9 mL, dan 1,0 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL (untuk mendapatkan konsentrasi 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, 100 ppm) volume dicukupkan sampai garis batas dengan etanol pekat. Diambil 1 mL dari setiap konsentrasi ditambahkan 1 mL larutan DPPH (0,2 mM) dimasukkan dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan dengan etanol pekat sampai tanda batas, kemudian didiamkan ditempat gelap selama 25 menit. Selanjutnya, diukur serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 516 nm. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali setelah itu dihitung persen peredaman dan dimasukkan dalam persamaan regresi linier dan didapatkan nilai IC<sub>50</sub> (Anwar et al., 2022).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan sampel dilakukan melalui berbagai proses persiapan simplisia pada umumnya yakni melalui pengumpulan bahan baku berupa daun cocor bebek dilanjutkan dengan proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan serta sortasi kering. Bobot daun cocor bebek awal yang digunakan sebesar 3 kg menghasilkan simplisia kering yang siap uji sebesar 320 g. Sehingga, terjadi susut selama proses persiapan sampel hingga menjadi simplisia kering sebesar 89,33%.

#### 1. Ekstraksi

Pelaksanaan ekstraksi pada penelitian ini menggunakan teknik konsensional sederhana yakni maserasi, dengan menggunakan pelarut

etanol (1:10) serta dilakukan remaserasi dengan total 3x. Waktu yang digunakan untuk maserasi selama 2x24 jam dengan bantuan pengadukan sesekali. Sampel daun cocor bebek yang digunakan sebanyak 200 g menghasilkan ekstrak kental merupakan hasil penguapan dari proses rotary evaporator sebesar 29.26 g, sehingga diperoleh %rendemen ekstraksi sebesar 14,63%.

#### 2. Identifikasi Fitokimia Kualitatif

Identifikasi fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui keberadaan fitokimia atau metabolit sekunder tertentu dalam suatu sampel. Identifikasi atau skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan yang dilaksanakan untuk mengetahui keberadaan baik metabolit primer maupun metabolit sekunder dalam suatu ekstrak (Abubakar & Haque, 2020). Jenis senyawa metabolit sekunder yang diuji pada sampel daun cocor bebek ini adalah alkaloid, saponin, tanin, fenol, flavonoid, dan triterpenoid serta steroid. Hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada Tabel 1.

Uji keberadaan senyawa alkaloid menggunakan reagen Dragendorff menghasilkan warna khas positif berupa merah jingga atau jingga. Kontrol positif yang dapat dijadikan pembandingan untuk uji kualitatif dragendrof yakni quinin (Sakti et al., 2019). Golongan senyawa alkaloid terutama alkaloid jenis indol mempunyai kemampuan menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara cepat (Zaluski et al., 2015). Sementara pada uji flavonoid digunakan bubuk logam Mg dalam suasana asam pekat HCl, metode uji kualitatif flavonoid ini disebut dengan metode Wilstater cyanidin, dengan warna khas positif pada uji ini kemerahan (Lindawati & Ma'ruf, 2020). Hasil yang diperoleh dari penelitian menunjukkan adanya

Tabel 1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Cocor Bebek

No	Identifikasi	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	+	Terbentuk warna jingga
2	Flavonoid	+	Terbentuk warna jingga kemerahan
3	Saponin	+	Terbentuknya buih/busa yang stabil ± 10 menit
4	Triterpenoid	+	Terbentuknya warna merah jingga
5	Steroid	-	Terbentuknya warna biru
6	Tanin	+	Terbentuknya warna hijau kehitaman
7	Fenol	+	Terbentuknya warna hitam hijau kebiruan

warna jingga kemerahan, yang menunjukkan adanya reaksi positif. Adanya serbuk Mg dan HCl pada uji kualitatif flavonoid bertujuan untuk mereduksi flavonoid terutama inti benzopiron pada struktur flavonoid (Dwityanti et al., 2019).

Pada uji kualitatif saponin dilakukan melalui pengocokan yang kuat hingga menghasilkan buih yang stabil hingga mencapai 10 menit pada penelitian ini. Buih yang dihasilkan sebagai reaksi positif dalam pengujian ini dikarenakan adanya kandungan glikosida pada saponin yang akan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya sehingga menghasilkan buih atau busa yang stabil (Kumalasari & Andiarna, 2020). Sementara pada uji kualitatif triterpenoid dan steroid menggunakan asam sulfat pekat. Uji kualitatif ini menggunakan pereaksi Liebermann-Buchard, dan reaksi dimulai dengan asetilasi gugus hidroksi oleh asetat anhidrat. Pembentukan ikatan rangkap disebabkan oleh gugus asetil. Akibatnya, gugus hidrogen dan elektronnya dilepaskan, yang menyebabkan resonansi dan menyebabkan karbokation. Pelepasan hidrogen mengikuti reaksi adisi elektrofilik. Dalam mekanisme reaksi ini, gugus hidrogen dan elektron yang lepas mengalami perpanjangan konjugasi, yang menghasilkan terbentuknya warna merah. (Siadi, 2012; Nurcholis et al., 2023). Sementara, pada penelitian ini tidak terdapat reaksi positif yang menunjukkan adanya steroid.

Senyawa tanin pada daun cocor bebek menyebabkan rasa sepat. Pada pengamatan uji kualitatif tanin daun cocor bebek memberikan warna biru kehijauan. terbentuknya kompleks warna hijau kebiruan atau biru kehiauan dikarenakan adanya senyawa golongan tanin terkondensasi, sedangkan senyawa tanin terhidrolisis akan memberikan warna biru kehitaman saat direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  (Soamole, 2018). Warna khas positif terbentuk dari kompleks antara pusat  $\text{Fe}^{3+}$  dengan senyawa tanin (Sonam et al., 2017).

Hasil pengamatan menunjukkan warna khas ungu kehitaman pada uji kualitatif fenol sampel daun cocor bebek. Sampel direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$ , reaksi positif dari hasil reaksi ini ditunjukkan dengan terbentuknya kompleks

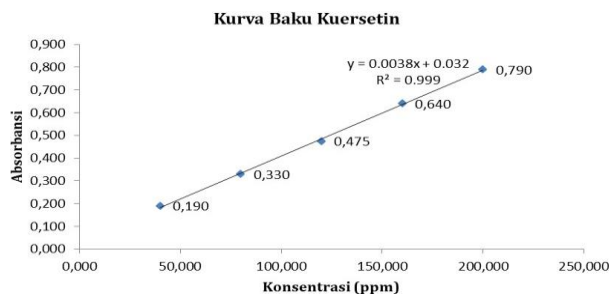
ungu kehitaman yang berasal dari besi (III) klorida (Nurcholis et al., 2023). Pada uji kualitatif atau skrining fitokimia daun cocor bebek diketahui daun cocor bebek sampel dalam penelitian ini mengandung senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, tanin, fenol, dan flavonoid.

### 3. Kadar Total Flavonoid

Analisis kuantitatif total flavonoid dalam suatu sampel diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Adanya sistem aromatik yang terkonjugasi pada struktur flavonoid sehingga akan menunjukkan pita serapan kuat pada daerah panjang gelombang sinar ultraviolet dan daerah spektrum sinar tampak. Prinsip pengujian total flavonoid secara kuantitatif menggunakan  $\text{AlCl}_3$  yakni adanya pembentukan kompleks stabil C-4 gugus keto, C-3 atau C-5 C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Karena kuersetin termasuk dalam kelompok flavonoid kelas flavonol, kompleks stabil dengan gugus ortohidroksil pada struktur flavonoid akan terbentuk karena adanya penambahan  $\text{AlCl}_3$  atau kation aluminium. Struktur flavonoid kuersetin memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Sari, 2017).

Pada pengujian kadar total flavonoid terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum kuersetin sebagai standar yang digunakan untuk mengukur total flavonoid pada sampel, diperoleh panjang gelombang maksimum yakni 437,3 nm dengan nilai absorbansi 0,648 pada konsentrasi 120 ppm. Hal ini diperkuat dari hasil penelitian bahwa kuersetin hanya menyerap cahaya dalam kisaran 400-500 nm ketika kation aluminium ditambahkan ke dalam larutan (Da Silva Uebel et al., 2016). Selain penentuan panjang gelombang maksimum juga ditentukan waktu inkubasi maksimum atau penentuan *operating time* sehingga intensitas warna selama periode inkubasi pengamatan kadar total flavonoid yang dihasilkan secara maksimal. Hasil penentuan waktu inkubasi maksimum diperoleh pada menit ke-10 berdasarkan pengamatan nilai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 437,3 nm. Adapun tabel hasil penentuan waktu inkubasi

maksimum flavonoid ditunjukkan pada Tabel 2. Adapun kurva kalibrasi kuersetin yang diperoleh pada panjang gelombang maksimum ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi kuersetin

Tabel 2 Penentuan masa inkubasi maksimum flavonoid

Waktu (menit)	Absorbansi
5	0,677
10	0,705
15	0,694
20	0,530
25	0,444

Dari penentuan kurva kalibrasi diperoleh bahwa semakin tinggi perlakuan konsentrasi maka akan semakin tinggi absorbansi. Adapun persamaan regresi linier yaitu  $y = 0,0038x + 0,032$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r = 0,9996$ ). Nilai  $r$  semakin mendekati 1 pada kurva baku linear menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai serapan (Sari, 2017). Sehingga, persamaan kurva kalibrasi kuersetin digunakan untuk penentuan konsentrasi senyawa flavonoid pada sampel daun cocor bebek. Nilai absorbansi dari ekstrak etanol daun cocor bebek diplotkan terhadap kurva standar kuersetin untuk menghitung nilai kadar total flavonoid. Adapun nilai kadar total flavonoid yang diperoleh dari hasil replikasi 3 kali ulangan sebesar 8,77% KE.

#### 4. Antioksidan

Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini diukur menggunakan metode penangkal radikal bebas 2,2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). Satuan antioksidan yang diukur dalam penelitian ini berupa konsentrasi penghambatan (*inhibition concentration*) atau  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  antioksidan diartikan sebagai konsentrasi sampel yang menghambat 50%

aktivitas radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004; Nofita et al., 2021). Metode ini menggunakan molekul DPPH, molekul ini mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi maksimum pada estimasi panjang gelombang 515-520 nm (Suryanti et al., 2018). Dalam penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH konsentrasi 0,2 mM yakni pada 516 nm. Hal yang sama dilaporkan oleh Yulizar et al., (2020) bahwa panjang gelombang maksimum pengamatan penangkal DPPH yakni 516 nm, DPPH akan mengalami reduksi dari yang awalnya berwarna ungu menjadi kuning memucat yakni karena adanya pembentukan DPPH-hidrazin. Selain pengujian panjang gelombang maksimum, hasil pengujian inkubasi maksimum pengujian antioksidan yang diperoleh yakni menit ke-25, sehingga lama waktu inkubasi sebelum pengamatan menggunakan UV-VIS pada panjang gelombang 516 nm yakni selama 25 menit.

Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  97,4213 ppm, sedangkan pembanding kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  5,1499 ppm. Secara spesifik dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat untuk  $IC_{50}$  bernilai  $<50$  ppm, kuat jika  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedangkan untuk  $IC_{50}$  101-150 ppm dan lemah untuk  $IC_{50} > 150$  ppm (Haerani et al., 2019; Setha et al., 2013). Berdasarkan klasifikasi tersebut, ekstrak etanol daun cocor bebek memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sedangkan aktivitas kontrol (kuersetin) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Komponen fenolik seperti flavonoid, asam fenolik, dan diterpen fenolik memberikan efek antioksidan terbesar (Ashfak et al., 2016; Simon et al., 1999).

Salah satu zat pereduksi yang dapat menghambat reaksi oksidasi adalah flavonoid. Kemampuan antioksidan metabolit sekunder flavonoid bergantung pada konfigurasi atau gugus fungsional yang ada pada struktur flavonoid, terutama keberadaan struktur hidroksil pada cincin aromatik B pada struktur flavonoid menjadi penentu penangkal radikal bebas (Kumar & Pandey, 2013).

Aktivitas antioksidan meningkat apabila gugus hidroksil pada struktur B flavonoid banyak, dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida (Fukumoto & Mazza, 2000). Flavonoid juga berperan dalam menghambat enzim monooksigenase mikrosomal, xantine oksigenase, lipooksigenase dan glutathione S-tranferase yang terlibat dalam perbanyakan ROS (Mierziak & Kostyn, 2014).

Ekstrak etanol cocor bebek yang diamati dalam penelitian ini diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan fenol. Ekstrak daun cocor bebek tidak mengandung senyawa steroid. Kadar total flavonoid ekstrak etanol sebesar 8,77% kuersetin dengan waktu inkubasi maksimum 10 menit dan panjang gelombang maksimum 437,3 nm. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun cocor terhadap DPPH memiliki penghambatan  $IC_{50}$  sebesar 97,42 ppm.

#### 4. DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah R Abubakar, M. H. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy Bioallied Science*, 12(1), 1–10.
- Anwar K, Lokana F. M, Budiarti, A. (2022). Antioxidant Activity of Dewandaru Leaf (*Eugenia Uniflora*L.) Ethanol Extract and Determination of Total Flavonoid and Phenolic Content. *Jurnal Ilmiah Sains*, Oktober 2022, 22(2):161-171.
- Ashfak, K., Chowdhury, A., Huq, M. E., Ali, S., Huq, I., Royhan, M. J., Chy, N. U., Kabir, I., Bin, R., & Auniq, J. (2016). Antioxidant , cytotoxic and thrombolytic activity of leaves of *Kalanchoe pinnata* ( LAM .) PERS . *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(4), 309–315.
- Astri Pinilih, H. (2014). Uji Sensitivitas Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1), 35–42.
- Bhairappa, A. A., Dhoble, V. V, & Potabatti, N. V. (2016). *A comparative study on the antioxidant activity of selected medicinalplant extracts*. 4(1), 11–13.
- Bhatti, M., Kamboj, A., Saluja, A., & Jain, U. (2012). In vitro evaluation and comparison of antioxidant activities of various extracts of leaves and stems of *Kalanchoe pinnatum*. *International Journal of Green Pharmacy*, 6(4), 340–347. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.108255>
- Bustanussalam. (2016). Pemanfaatan Obat Tradisional (Herbal) Sebagai Obat Alternatif. *BioTrends*, 7(1), 20–25.
- Da Silva Uebel, L., Angelica Schmatz, D., Goettems Kuntzler, S., Lima Dora, C., Luiza Muccillo-Baisch, A., Alberto Vieira Costa, J., & Greque De Morais, M. (2016). Quercetin and curcumin in nanofibers of polycaprolactone and poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate): Assessment of in vitro antioxidant activity. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(30), 1–7. <https://doi.org/10.1002/app.43712>
- Dwitiyanti, Harahap, Y., Elya, B., & Bahtiar, A. (2019). Impact of solvent on the characteristics of standardized binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Pharmacognosy Journal*, 11(6), 1463–1470. <https://doi.org/10.5530/PJ.2019.11.226>
- Elfahmi, Woerdenbag, H. J., & Kayser, O. (2014). Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *Journal of Herbal Medicine*, 4(2), 51–73. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2014.01.002>
- Fukumoto LR, M. G. (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597–3604.
- Haerani, A., Chaerunisa, A. Y., & Subarnas, A. (2019). Antioxidant Activities of *Muntingia calabura*, *Syzygium cumini*, *Ocimum basilicum*, and *Eleutherine bulbosa* using DPPH Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutics*, 1(2), 57–61. <https://doi.org/10.24198/idjp.v1i2.21531>
- Halliwell, B., Gutteridge, J.,M., C. (1999).



- Lipid peroxidation: a radical chain reaction.* In: Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (Eds.), *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press.
- Hasim, H., Nuris, M. A., Setyono, A., Qomaliyah, E. N., & Faridah, D. N (2020). Ekstrak Angkak dan Bekatul untuk Mencegah Peroksidasi Lipid Tikus Spague-Dawley Hiperglikemik. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 9(2), 62–69.
- Kistanti H. (2012). *Obat-obatan Herbal Ramuan Herbal Pusaka Penyembuh 101 Penyakit* (Cetakan 1). Salam media.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., & Watkins, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1), 24–38. <https://doi.org/10.1002/jbt.10058>
- Matough, F. A., Budin, S. B., Hamid, Z. A., Alwahaibi, N., & Mohamed, J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 12(1), 556–569.
- Mierziak J, Kostyn K, K. A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment: a Review. *Molecules*, 19(4), 16240:16265.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl ( DPPH ) for estimating antioxidant activity. *The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, 50, 211–219.
- Nofita, Tutik, Garini T. 2021. Pengaruh Pemilihan Teknik Ekstraksi Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 4(1): 12-21.
- Nurcholis, W., Marlioni, N., Adam, F., Da'inawari, K. S. F., & Mukti, Khalissa Sekar Amanda Sudarjat, T. R. U. (2023). Uji Sitoksisitas , Fitokimia Kualitatif , dan Antibakteri pada Lima Genotipe Rimpang Temu Hitam ( *Curcuma aeruginosa* Roxb ), *Jurnal Sains dan Teknologi*, 6(1), 1–11.
- Okwu, D. ., & Nnamdi, F. . (2011). Journal of Chemical and Pharmaceutical Research Two novel flavonoids from Bryophyllum pinnatum and their. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2), 1–10.
- Prasad AK, Kumar S, Iyer SV, Sudani RJ, V. S. (2012). Pharmacognostical, phytochemical and pharmacological review on Bryophyllum pinnata. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 3(1), 423–433.
- Raj,A.,Gururaja,M.P.,Joshi,H.,&Shastry,C.S. (2014). Kalanchoe pinnatum in treatment of gallstones: An ethnopharmacological review. *International Journal of PharmTech Research*, 6(1), 252–261.
- Rajsekhar, P. B., Arvind Bharani, R. S., Ramachandran, M., Jini Angel, K., & Rajsekhar, S. P. V. (2016). The “wonder plant” Kalanchoe pinnata (linn.) pers.: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(3), 151–158.
- Rohman, A. (2007). Kimia farmasi analisis. *Pustaka Pelajar, Yogyakarta*, 222.
- Ruslan, K., Happyniar, S., & Fidrianny, I. (2018). Antioxidant potential of two varieties of Sesamum indicum L. collected from Indonesia. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(3), 211–218.
- Safitri, A. R., Mohammad, A., & Abror, I. (2013). Uji Efek Analgetik Infusa Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata* (Lam.)

- pers.) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss Yang Diinduksi Dengan Asam Asetat. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 3(1).
- Saklayen, M., G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(12), 1–8.
- Sakti, A. S., Saputri, F. C., & Munim, A. (2019). Microscopic characters, phytochemical screening focus on alkaloid and total phenolic content of *Uncaria gambir* Roxb. and *uncaria sclerophylla* Roxb. Leaves. *Pharmacognosy Journal*, 11(1), 119–123.
- Sari, A. K., Ayuchecaria, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L*) dari Kalimantan Selatan. 2(September), 327–335.
- Setha, B., Gaspersz, F. F., Idris, A. P. S., Rahman, S., & Mailoa, M. N. (2013). Potential Of Seaweed *Padina* Sp. As A Source Of Antioxidant. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2(6), 221–224.
- Sharker, S. M., Hossain, M. K., Haque, M. R., Chowdhury, A. A., Kaiser, A., Hasan, C. M., & Rashid, M. A. (2012). Chemical and biological studies of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) growing in Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3 SUPPL.), S1317–S1322. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60408-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60408-0)
- Shashank Kumar, A. K. P. (2013). Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 1(13), 34–42.
- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar *Jatropha curcas* sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*, 35(1), 77–83.
- Simon JE, Morales MR, Phippen WB, Vieira RF, H. Z. (1999). *Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb*. In J. Janick (Ed.), *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press.
- Singh, S. K., Patel, J. R., & Dangi, A. (2019). Physicochemical, Qualitative and Quantitative Determination of Secondary Metabolites and Antioxidant Potential of *Kalanchoe Pinnata* (Lam.) Pers. Leaf Extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1), 220–224. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2225>
- Sonam, Mehta., Singh, R.P, Pooja, S. 2017. Phytochemical Screening and TLC Profiling of Various Extracts of *Reinwardtia indica*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(4); 523-527.
- Suryanti, V., Wibowo, F. R., Khotijah, S., & Andalucki, N. (2018). Antioxidant Activities of Cinnamaldehyde Derivatives. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 333(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/333/1/012077>
- Winahyu, DA., Retnaningsih, A, Aprilia. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Raru (*Cotylelobiummelanoxylo*nP) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1): 29-36
- Verma, P., Gauttam, V., & Kalia, A. N. (2014). Comparative pharmacognosy of *Pashanbhed*. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 5(2), 104–108. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.131728>
- Yulizar, Y., Kusri, E., Apriandanu, D. O. B., & Nurdini, N. (2020). *Datura metel* L. Leaves extract mediated CeO<sub>2</sub> nanoparticles: Synthesis, characterizations, and degradation activity of DPPH radical. *Surfaces and Interfaces*, 19(March), 100437. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100437>
- Zaluski, D., Cieš la, Ł., & Janeczko, Z. (2015). The structure-activity relationships of plant secondary metabolites with antimicrobial, free radical scavenging and inhibitory activity toward selected enzymes. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 45). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63473-3.00007-1>