



Penentuan Kadar Total Fenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach L.*) dengan Metode DPPH

Diana Laurencia¹, Razoki^{2*}, Daimah Wirdatus Sanaun Harahap³

¹⁻³Program Studi Sarjana Farmasi Klinis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia

²⁻³PUI *Phytodegenerative and Lifestyle Medicine*, Universitas Prima Indonesia

Email: dianalawrencia8@gmail.com¹, razoki@unprimdn.ac.id^{2*}, daimahwsharahap@unprimdn.ac.id³

*Penulis Korespondensi: razoki@unprimdn.ac.id

Abstract. Free radicals are reactive molecules that can trigger oxidative stress and contribute to the development of various degenerative diseases. One approach to overcoming the harmful effects of free radicals is the utilization of natural antioxidants derived from medicinal plants. Mindi leaves (*Melia azedarach L.*) are known to contain various secondary metabolites that have potential antioxidant activity. This study aimed to determine the total phenolic content and evaluate the antioxidant activity of the ethanol extract of mindi leaves using the DPPH method. This research was conducted as an experimental laboratory study involving several stages, including simplisia characterization, phytochemical screening, thin-layer chromatography (TLC) analysis, determination of total phenolic content using the Folin-Ciocalteu method, and antioxidant activity testing using the DPPH method with a UV-Vis spectrophotometer. The results of simplisia characterization showed that all parameters met the requirements of the Indonesian Herbal Pharmacopoeia. Phytochemical screening indicated the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, phenols, and steroids/terpenoids. The determination of total phenolic content showed an average value of 79.68 ± 2.6 mg GAE/g extract. The antioxidant activity test using the DPPH method produced an IC_{50} value of 102.62 ppm, which is categorized as moderate antioxidant activity. These findings indicate that the ethanol extract of mindi leaves contains phenolic compounds that contribute to free radical scavenging activity in vitro, suggesting its potential to be developed as a natural antioxidant source.

Keywords: Antioxidants; DPPH; Free Radicals; *Melia Azedarach Leaves*; Total Phenolic Content.

Abstrak. Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang dapat memicu stres oksidatif dan berkontribusi terhadap terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Salah satu upaya untuk menanggulangi dampak radikal bebas adalah dengan memanfaatkan sumber antioksidan alami dari tanaman obat. Daun mindi (*Melia azedarach L.*) diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar total fenol serta mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mindi menggunakan metode DPPH. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, analisis kromatografi lapis tipis (KLT), penetapan kadar total fenol dengan metode Folin-Ciocalteu, serta uji aktivitas antioksidan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil karakterisasi simplisia menunjukkan bahwa seluruh parameter memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia. Skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, serta steroid/terpenoid. Penetapan kadar total fenol menunjukkan nilai rata-rata sebesar $79,68 \pm 2,6$ mg GAE/g ekstrak. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 102,62 ppm, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mindi memiliki kandungan senyawa fenolik yang berkontribusi terhadap kemampuan peredaman radikal bebas secara in vitro, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

Kata Kunci: Antioksidan; Daun Mindi; DPPH; Fenol Total; Radikal Bebas.

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan spesies reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan dan berkontribusi terhadap terjadinya stres oksidatif. Kondisi ini berperan dalam kerusakan biomolekul serta perkembangan berbagai penyakit degeneratif, termasuk diabetes mellitus dan penyakit kardiovaskular (Razoki, 2023; Sihotang et al., 2025). Oleh karena itu, pengembangan

sumber antioksidan alami menjadi strategi penting dalam upaya pencegahan kerusakan sel akibat paparan radikal bebas.

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas. Kandungan fenolik suatu ekstrak sering dikaitkan dengan peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas yang secara kuantitatif dinyatakan dalam nilai IC_{50} (Irawan et al., 2022). Penetapan kadar total fenol menggunakan metode Folin–Ciocalteu serta evaluasi aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH merupakan pendekatan yang banyak digunakan untuk menilai potensi antioksidan bahan alam secara *in vitro*.

Daun mindi (*Melia azedarach* L.) dilaporkan mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk flavonoid dan senyawa fenolik, yang berpotensi memberikan aktivitas antioksidan (Gading & Rabima, 2020; Touzout et al., 2023). Namun demikian, sebagian penelitian sebelumnya masih terbatas pada identifikasi kualitatif atau pelaporan aktivitas antioksidan tanpa analisis kuantitatif yang menghubungkan kadar total fenol dengan nilai IC_{50} secara terukur pada ekstrak etanol dengan konsentrasi pelarut tertentu. Selain itu, pendekatan yang mengintegrasikan karakterisasi simplisia sesuai standar mutu dengan evaluasi fenolik dan aktivitas antioksidan masih jarang dilaporkan.

Berdasarkan celah tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar total fenol serta mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% daun mindi secara terintegrasi. Pendekatan ini memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai hubungan antara kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan, sehingga dapat memperkuat dasar ilmiah pengembangan daun mindi sebagai sumber antioksidan alami berbasis tanaman obat.

2. METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Prima Indonesia dan Laboratorium Fitokimia Universitas Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer UV–Vis, timbangan analitik, oven, water bath, hot plate, blender, ayakan mesh, chamber KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, mikropipet dan tip, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, labu ukur, gelas ukur, gelas piala, erlenmeyer, bejana kromatografi, batang pengaduk, dan peralatan gelas laboratorium lainnya.

Bahan yang digunakan meliputi daun mindi (*Melia azedarach* L.), etanol absolut, etanol 96%, metanol, akuades, pereaksi Folin–Ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3), asam galat, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), vitamin C, silika gel GF₂₅₄, larutan FeCl_3 1% dan 5%, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Bouchardat, serbuk logam magnesium (Mg), asam klorida (HCl) 2 N, serta pereaksi Liebermann–Burchard.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Sampel daun *Melia azedarach* L. dikumpulkan dari wilayah Deli Serdang, Sumatera Utara. Identifikasi dan determinasi botani dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utar, Medan, untuk memastikan kebenaran spesies yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil determinasi, sampel tersebut termasuk dalam famili *Meliaceae* dan teridentifikasi sebagai *Melia azedarach* L., dengan nomor determinasi (No. 156/MEDA/2025).

Preparasi Sampel

Daun *Melia azedarach* L. yang telah dikumpulkan selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran dan bahan asing yang terbawa selama proses pengambilan sampel. Daun kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dan dirajang untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan metode pengeringan alami (diangin-anginkan) serta menggunakan lemari pengering hingga diperoleh bahan kering. Simplisia kering yang dihasilkan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, yang selanjutnya digunakan sebagai bahan baku pada proses ekstraksi.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah kaca tertutup dan direndam dengan etanol 80% selama tiga hari, disertai pengadukan dua kali sehari. Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu kemudian diremaserasi untuk mengoptimalkan penarikan senyawa aktif. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pemekatan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 27,65 g dengan rendemen sebesar 27,65%. Perhitungan rendemen dilakukan dengan membandingkan berat ekstrak kental terhadap

berat awal serbuk simplisia kering. Ekstrak kemudian disimpan dalam wadah kaca tertutup pada lemari penyimpanan hingga dilakukan pengujian lebih lanjut.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia merupakan tahap penting dalam standardisasi bahan baku obat tradisional guna menjamin mutu, keamanan, dan konsistensi hasil penelitian. Parameter seperti kadar air, kadar sari larut air dan etanol, kadar abu total, serta kadar abu tidak larut dalam asam digunakan untuk mengevaluasi kemurnian dan kandungan senyawa dalam simplisia, sehingga dapat meminimalkan adanya kontaminasi maupun degradasi bahan aktif. Kadar air yang sesuai akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan kadar abu mencerminkan kandungan mineral dan kemungkinan cemaran anorganik. Dengan demikian, pengujian karakteristik simplisia menjadi langkah awal yang krusial sebelum dilakukan analisis lebih lanjut terhadap aktivitas farmakologis tanaman (Depkes RI, 2008; WHO, 2011; Saifudin et al., 2011).

Kadar air ditetapkan dengan metode destilasi menggunakan toluen terhadap 5g serbuk simplisia, kemudian dihitung sebagai persentase volume air yang terdestilasi terhadap bobot awal sampel. Kadar sari larut dalam air dan etanol ditentukan dengan metode maserasi masing-masing menggunakan 100 mL pelarut selama 24 jam. Filtrat diuapkan hingga bobot tetap pada suhu 105°C, kemudian dihitung sebagai persentase terhadap bahan kering. Kadar abu total ditetapkan dengan pemijaran ± 2 g serbuk simplisia hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu tidak larut dalam asam ditentukan dengan mereaksikan abu total menggunakan asam klorida 2 N, kemudian residu dipijarkan kembali hingga bobot tetap. Seluruh hasil dinyatakan dalam persen (%)

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun *Melia azedarach L.* Pengujian fenol dan tanin dilakukan menggunakan pereaksi FeCl_3 yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan uji reaksi menggunakan serbuk magnesium dan asam klorida pekat (uji Shinoda) yang ditunjukkan dengan perubahan warna merah atau jingga. Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff dan Mayer yang menghasilkan endapan berwarna jingga atau putih kekuningan. Sementara itu, uji saponin dilakukan dengan metode pembentukan buih, di mana terbentuknya busa stabil menunjukkan hasil positif. Hasil skrining fitokimia digunakan sebagai data pendukung dalam interpretasi kadar total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak.

Uji Kualitatif Fenol dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi kualitatif senyawa fenolik dalam ekstrak etanol daun *Melia azedarach* L. dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan dilakukan pada plat Silika Gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam, dengan fase gerak campuran toluen : aseton : asam format (6:6:1).

Larutan uji dibuat dalam konsentrasi 10% menggunakan etanol 70%, sedangkan larutan pembanding menggunakan asam galat 0,1% dalam air. Penotolan dilakukan sebanyak 20 µL untuk larutan uji dan 5 µL untuk larutan pembanding. Setelah proses elusi selesai, kromatogram diamati secara visual sebelum penyinaran, kemudian di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Selanjutnya, lempeng disemprot dengan pereaksi FeCl₃ dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5–10 menit untuk memperjelas bercak. Hasil menunjukkan adanya noda dengan nilai R_f yang mendekati nilai R_f pembanding asam galat (R_f 0,21), yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru hingga kehitaman setelah penyemprotan. Hal ini mengindikasikan adanya kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak daun *Melia azedarach* L. (Kowalska & Sajewicz, 2022).

Penetapan Kadar Total Fenol

Penetapan kadar total fenol ekstrak etanol daun *Melia azedarach* L. dilakukan menggunakan metode Folin–Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar pembanding. Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi pereaksi Folin–Ciocalteu oleh senyawa fenolik dalam suasana basa yang menghasilkan kompleks berwarna biru dan dapat diukur secara spektrofotometri UV–Vis. Larutan induk asam galat dibuat dengan melarutkan 25 mg asam galat dalam metanol, kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm. Untuk penentuan panjang gelombang maksimum, sebanyak 0,3 mL larutan standar (30 ppm) direaksikan dengan 0,5 mL pereaksi Folin–Ciocalteu 10% dan 1 mL Na₂CO₃ 10%, divortex selama ±1 menit, kemudian diinkubasi selama 35 menit pada suhu ruang dan dipindai pada rentang 400–800 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum 765 nm (Irawan et al., 2022; Nurhajanah et al., 2020).

Kurva kalibrasi disusun dari larutan standar asam galat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 0,5 mL, ditambahkan 2 mL akuades, 0,5 mL pereaksi Folin–Ciocalteu 10%, dan 1 mL Na₂CO₃ 10%, kemudian divortex dan diinkubasi selama 35 menit sebelum diukur absorbansinya pada panjang gelombang

765 nm untuk memperoleh persamaan regresi linear (Irawan et al., 2022). Larutan sampel dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam metanol dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel direaksikan dengan pereaksi yang sama, diinkubasi selama 35 menit, kemudian diukur absorbansinya terhadap blanko menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kadar total fenol dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva standar dan dinyatakan sebagai mg gallic acid equivalent (GAE) per gram ekstrak (Nurhajanah et al., 2020; Touzout et al., 2023).

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Melia azedarach* L. dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 10 mg DPPH dalam metanol hingga volume 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 200 ppm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur serapan larutan DPPH pada rentang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh panjang gelombang maksimum pada 515 nm, yang selanjutnya digunakan untuk seluruh pengukuran. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk tereduksi berwarna kuning, sehingga terjadi penurunan absorbansi (Irawan et al., 2022; Nurhajanah et al., 2020).

Larutan stok ekstrak dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam metanol hingga volume 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dibuat variasi konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 ppm dengan cara memipet masing-masing 0,25; 0,50; 0,75; dan 1,00 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH 200 ppm dan metanol hingga volume akhir 5 mL. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm terhadap blanko. Prosedur ini dilakukan dalam tiga kali pengulangan.

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dan diperlakukan dengan prosedur yang sama menggunakan variasi konsentrasi 2–6 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan mencampurkan larutan DPPH dan metanol tanpa penambahan sampel. Persentase aktivitas peredaman radikal bebas dihitung menggunakan rumus perbandingan antara absorbansi kontrol dan absorbansi sampel. Hubungan antara konsentrasi dan persen peredaman dianalisis menggunakan regresi linier untuk menentukan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang mampu meredam 50% radikal DPPH sebagai parameter kekuatan aktivitas antioksidan (Kalyani & Reddy, 2021).

Analisis Data

Data kadar total fenol dan aktivitas antioksidan dianalisis secara kuantitatif menggunakan pendekatan regresi linier. Kurva kalibrasi asam galat dibuat dengan memplot konsentrasi terhadap absorbansi untuk memperoleh persamaan regresi dan koefisien determinasi (R^2) sebagai indikator linearitas. Nilai kadar total fenol dihitung berdasarkan persamaan regresi tersebut dan dinyatakan sebagai mg gallic acid equivalent (GAE) per gram ekstrak.

Pada uji aktivitas antioksidan metode DPPH, persentase peredaman radikal bebas dihitung dari selisih absorbansi kontrol dan sampel. Hubungan antara konsentrasi dan persen peredaman dianalisis menggunakan regresi linier untuk menentukan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menghasilkan 50% peredaman radikal DPPH. Seluruh data disajikan sebagai nilai rata-rata \pm standar deviasi dari tiga kali pengulangan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun mindi segar dipreparasi menjadi simplisia melalui proses sortasi, pencucian, pengeringan, serta penggilingan. Selanjutnya, serbuk simplisia yang diperoleh digunakan untuk pengujian karakterisasi guna memastikan mutu bahan baku sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia daun mindi dilakukan untuk memastikan mutu bahan baku sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Parameter yang diuji meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Hasil karakterisasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Mindi.

Parameter	Kadar (%)	Persyaratan FHI
Kadar air	9,31%	$\leq 10\%$
Kadar abu total	1,36%	$\leq 2,5\%$
Kadar abu tidak larut asam	1,22%	$\leq 1,8\%$
Kadar sari larut air	25,23%	$\geq 14,8\%$
Kadar sari larut etanol	21,59%	$\geq 19,9\%$

Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa seluruh parameter mutu simplisia daun mindi memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI,

2017). Kadar air sebesar 9,31% berada di bawah batas maksimum 10%, yang menunjukkan stabilitas simplisia yang baik serta risiko pertumbuhan mikroorganisme yang rendah selama penyimpanan. Kadar abu total (1,36%) dan abu tidak larut asam (1,22%) yang relatif rendah mengindikasikan minimnya cemaran anorganik atau kontaminasi silikat dalam bahan baku.

Nilai kadar sari larut air (25,23%) yang lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut etanol (21,59%) menunjukkan bahwa komponen senyawa polar dalam simplisia relatif lebih dominan. Hal ini sejalan dengan karakteristik senyawa fenolik dan flavonoid yang umumnya bersifat polar hingga semipolar, sehingga penggunaan pelarut etanol 80% dalam proses ekstraksi dinilai rasional untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mindi dengan menggunakan pereaksi spesifik. Hasil skrining fitokimia disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Mindi.

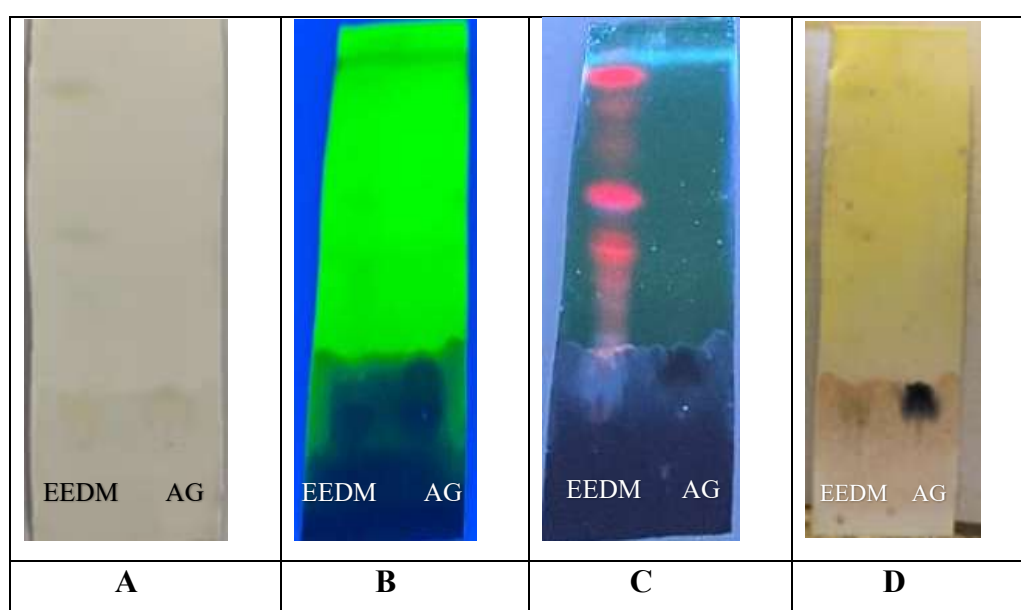
No.	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Indikasi Visual
1.	Alkaloid	Mayer	(+) Endapan putih	Endapan putih
		Dragendorff	(+) Endapan Merah	Endapan Merah
		Bouchardat	(+) Merah Kecoklatan	Merah Kecoklatan
2.	Flavonoid	Mg-HCl	(+) merah	Merah, kuning, jingga
3.	Saponin	Uji busa	(+) Busa >1cm	Busa setinggi 1-10 cm
4.	Tanin	FeCl ₃ 1%	(+) Biru kehitaman	Hijau/Biru kehitaman
5.	Fenol	FeCl ₃ 1%	(+) Biru kehitaman	Hijau/Biru kehitaman
6.	Steroid/Terpenoid	Liebermann- Burchard	(+) ungu kehijauan	Ungu ke biru/hijau

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach L.*) mengandung beberapa golongan metabolit sekunder, antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, serta steroid/terpenoid, yang ditunjukkan oleh terbentuknya

endapan atau perubahan warna khas setelah penambahan pereaksi spesifik. Temuan ini sejalan dengan laporan Touzout et al. (2023) yang menyatakan bahwa *Melia azedarach* mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan dalam aktivitas antioksidan.

Keberadaan senyawa fenol dan flavonoid dalam ekstrak menjadi dasar dilakukannya penetapan kadar total fenol dan pengujian aktivitas antioksidan. Namun demikian, skrining fitokimia bersifat kualitatif dan tidak memberikan informasi mengenai kadar maupun struktur spesifik senyawa yang teridentifikasi (Nazirah et al., 2023). Oleh karena itu, analisis kuantitatif lanjutan diperlukan untuk mendukung interpretasi potensi biologis ekstrak.

Uji Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis.

Keterangan:

A = Plat sebelum UV

B = Plat dipancarkan dengan lampu UV 254 nm

C = Plat dipancarkan dengan UV 366 nm

D = Plat disemprotkan dengan penampak bercak

Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya noda pada ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) dengan nilai Rf sebesar 0,2125 yang sebanding dengan pembanding asam galat. Setelah penyemprotan dengan pereaksi FeCl₃, noda tersebut menunjukkan perubahan warna khas biru kehitaman yang mengindikasikan keberadaan senyawa fenolik.

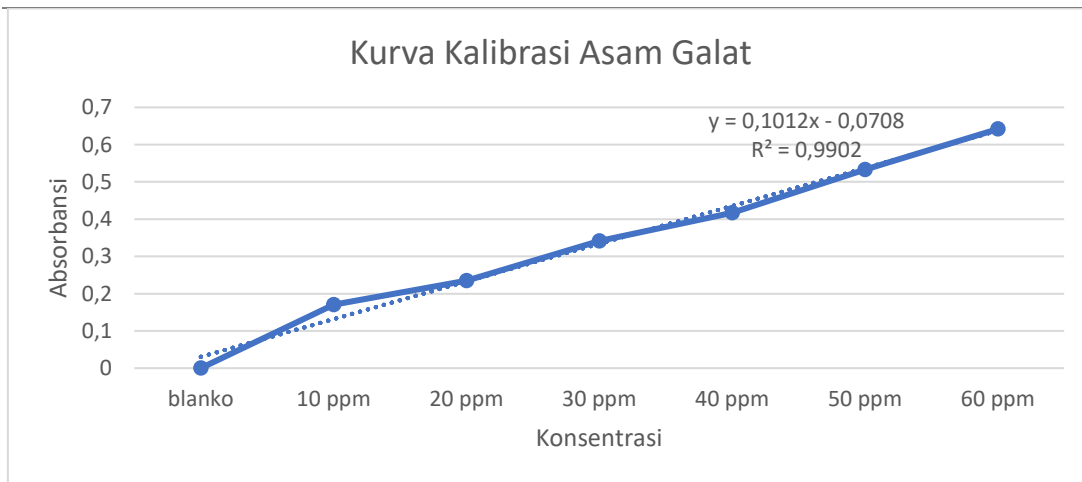
Selain noda utama yang sejajar dengan asam galat, teramati beberapa noda lain dengan nilai Rf berbeda, yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mindi merupakan campuran kompleks berbagai senyawa metabolit sekunder. Metode KLT bersifat kualitatif dan memberikan indikasi awal keberadaan golongan senyawa tertentu berdasarkan kesesuaian nilai Rf dan respon pereaksi spesifik, namun tidak dapat memastikan struktur kimia secara definitif (Nazirah et al., 2023).

Dengan demikian, hasil KLT ini mendukung temuan skrining fitokimia serta menjadi dasar rasional untuk dilakukan penetapan kadar total fenol dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Uji Total Fenol

Tabel 3. Hasil Uji Kadar Total Fenol.

Pengulangan	Absorbansi (765 nm)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar Total Fenol (mg GAE/g ekstrak)
I	0.870	83.35	82.52
II	0.8141	77.43	77.43
III	0.8310	79.10	79.10
Rata-rata	-	-	79.68 ± 2.6



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Asam Galat.

Hasil penetapan kadar total fenol menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach L.*) memiliki kadar total fenol rata-rata sebesar $79,68 \pm 2,6$ mg GAE/g ekstrak ($n=3$). Nilai ini diperoleh dari pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 765 nm dan perhitungan berdasarkan kurva kalibrasi asam galat dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,9902$, yang menunjukkan linearitas hubungan konsentrasi–absorbansi yang kuat dalam rentang pengujian.

Nilai kadar total fenol tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun mindi mengandung senyawa fenolik dalam jumlah yang cukup signifikan. Jika dibandingkan dengan laporan Touzout et al. (2023), kandungan fenolik pada *Melia azedarach* dapat bervariasi tergantung pada jenis pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Variasi tersebut menunjukkan bahwa faktor teknis ekstraksi berperan penting dalam menentukan jumlah senyawa fenolik yang terisolasi.

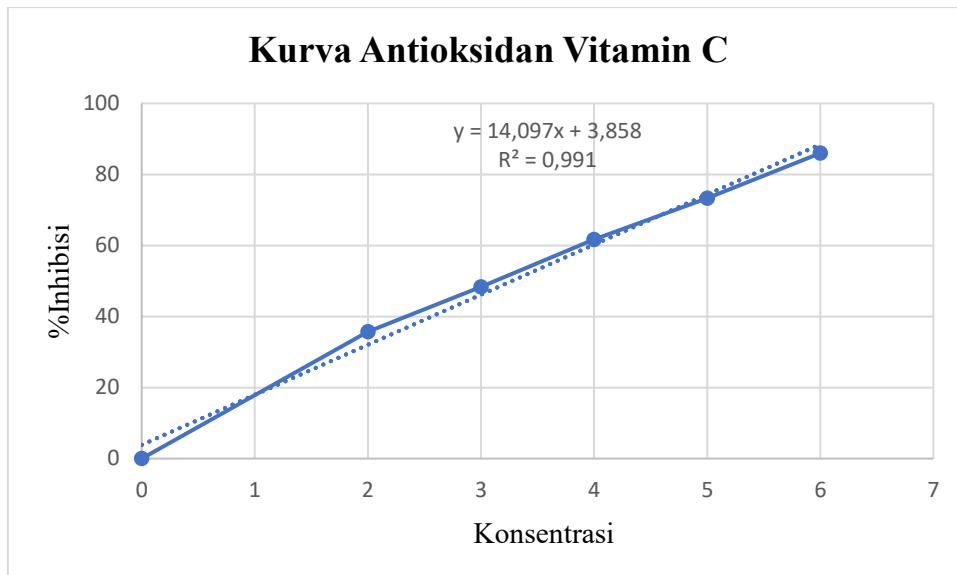
Senyawa fenolik diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan melalui mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Irawan et al., 2022). Penggunaan etanol 80% sebagai pelarut dalam penelitian ini diduga mendukung ekstraksi senyawa fenolik karena sifatnya yang mampu melarutkan senyawa polar hingga semipolar.

Hasil ini konsisten dengan skrining fitokimia dan analisis KLT yang mengindikasikan keberadaan senyawa fenol dalam ekstrak. Namun demikian, metode Folin–Ciocalteu mengukur kapasitas reduksi total dan tidak spesifik hanya terhadap senyawa fenolik, sehingga kemungkinan adanya kontribusi senyawa reduktor lain dalam ekstrak tidak dapat sepenuhnya dikesampingkan. Oleh karena itu, interpretasi kadar total fenol perlu dipertimbangkan sebagai estimasi kapasitas fenolik secara umum.

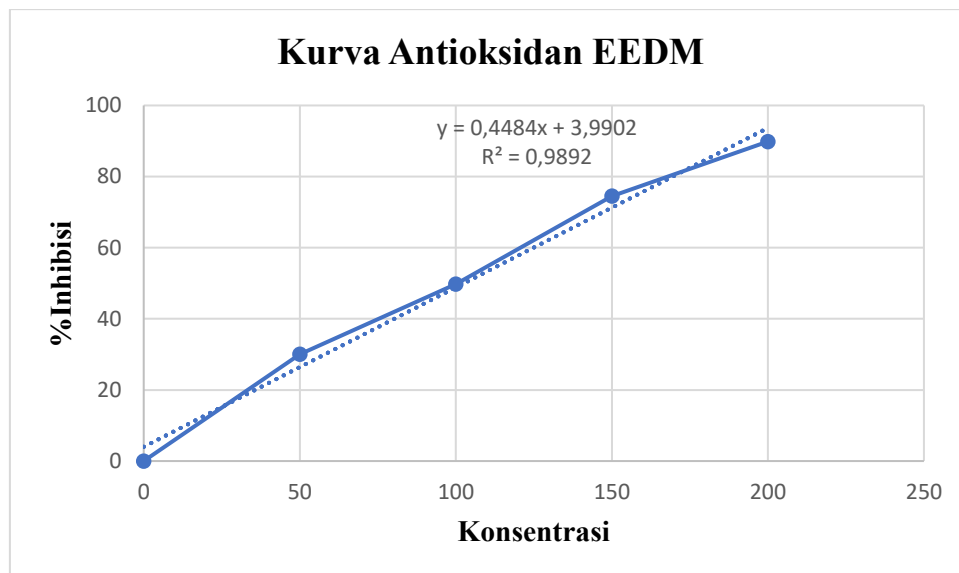
Uji Antioksidan Metode DPPH

Tabel 4. Hasil Uji Antioksidan Metode DPPH.

No	Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀
1.	Vitamin C	0	0.885	-	3.2730 ppm
		2	0.569	35.7062	
		3	0.457	48.3616	
		4	0.339	61.6949	
		5	0.236	73.3333	
		6	0.124	85.9887	
2.	EEDM	0	0.9363	-	102.617 9 ppm
		50	0.6554	30.0011	
		100	0.4701	49.7881	
		150	0.2387	74.5025	
		200	0.0951	89.8394	



Gambar 3. Kurva Hubungan Konsentrasi Vitamin C terhadap %Inhibisi Radikal DPPH.



Gambar 4. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Mindi terhadap %Inhibisi Radikal DPPH.

Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya hubungan yang jelas baik pada vitamin C maupun ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach L.*). Peningkatan konsentrasi sampel diikuti oleh penurunan absorbansi dan peningkatan persentase inhibisi, yang menunjukkan bahwa aktivitas peredaman radikal DPPH bersifat bergantung dosis. Analisis regresi linier menghasilkan nilai koefisien determinasi (R^2) yang tinggi, yang menunjukkan bahwa variasi konsentrasi berkontribusi

secara signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan dalam rentang pengujian (Nurhajanah et al., 2020).

Vitamin C sebagai pembanding menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 3.27 ppm, mencerminkan kemampuannya sebagai antioksidan murni dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Kalyani & Reddy, 2021).

Ekstrak etanol daun mindi memiliki nilai IC_{50} sebesar 102,62 ppm yang termasuk kategori sedang ($IC_{50} < 50$ ppm = sangat kuat; 50–100 ppm = kuat; 100–150 ppm = sedang; >150 ppm = lemah) (Nurhajanah et al., 2020). Meskipun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan vitamin C, hasil ini tetap menunjukkan adanya kemampuan peredaman radikal bebas dalam sistem uji *in vitro*.

Jika dibandingkan dengan penelitian Touzout et al. (2023) yang melaporkan nilai IC_{50} lebih rendah pada ekstrak *Melia azedarach* dengan pelarut berbeda, variasi aktivitas yang diperoleh dalam penelitian ini kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan metode ekstraksi, polaritas pelarut, serta komposisi fitokimia ekstrak. Hal ini menegaskan bahwa parameter teknis ekstraksi memiliki peran penting dalam menentukan kekuatan aktivitas antioksidan suatu ekstrak tanaman.

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mindi memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami, meskipun aktivitas antioksidannya masih lebih rendah dibandingkan standar seperti vitamin C. Perbedaan ini wajar terjadi karena vitamin C merupakan senyawa murni dengan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sedangkan ekstrak tanaman merupakan campuran kompleks berbagai senyawa bioaktif dengan potensi aktivitas yang berbeda-beda. Oleh karena itu, temuan ini memperkuat potensi daun mindi sebagai antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mindi diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik sebesar $79,68 \pm 2,6$ mg GAE/g ekstrak yang telah ditetapkan sebelumnya. Senyawa fenolik diketahui berperan dalam mekanisme penangkapan radikal bebas melalui donasi elektron atau atom hidrogen yang menghasilkan stabilisasi radikal melalui resonansi (Irawan et al., 2022; Oktavia & Sutoyo, 2021). Namun demikian, metode DPPH hanya menggambarkan aktivitas dalam sistem kimia sederhana dan tidak sepenuhnya merepresentasikan kondisi biologis yang kompleks.

Karena penelitian ini hanya menggunakan satu jenis ekstrak, analisis korelasi statistik langsung antara kadar total fenol dan nilai IC₅₀ tidak dilakukan. Oleh karena itu, hubungan yang dibahas bersifat interpretatif berdasarkan literatur yang menyatakan adanya kecenderungan hubungan antara kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, simplisia daun mindi (*Melia azedarach* L.) memenuhi persyaratan mutu Farmakope Herbal Indonesia dan layak digunakan sebagai bahan baku penelitian. Ekstrak etanol 80% daun mindi mengandung metabolit sekunder, termasuk senyawa fenolik yang terindikasi melalui skrining fitokimia dan analisis KLT. Penetapan kadar total fenol menunjukkan nilai sebesar $79,68 \pm 2,6$ mg GAE/g ekstrak, sedangkan uji aktivitas antioksidan metode DPPH menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 102,62 ppm, yang termasuk kategori sedang. Hasil ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak daun mindi berkontribusi terhadap aktivitas peredaman radikal bebas secara *in vitro*. Penelitian ini memberikan dasar ilmiah mengenai potensi daun mindi sebagai sumber antioksidan alami, meskipun pengujian lanjutan secara *in vivo* masih diperlukan untuk mengonfirmasi relevansi biologisnya.

Penelitian ini memiliki keterbatasan, sehingga peneliti selanjutnya disarankan untuk memperkuat temuan ini melalui penggunaan metode antioksidan lain seperti ABTS atau FRAP, serta pengujian aktivitas secara *in vivo* untuk mengevaluasi relevansi biologisnya. Selain itu, isolasi dan karakterisasi senyawa fenolik spesifik menggunakan teknik analisis yang lebih lanjut, seperti LC-MS atau HPLC, diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Optimasi metode ekstraksi dan variasi pelarut juga dapat dilakukan guna meningkatkan efektivitas ekstraksi senyawa bioaktif dari daun mindi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Universitas Prima Indonesia, khususnya Program Studi Sarjana Farmasi Klinis Fakultas Ilmu Kesehatan serta PUI Phytodegenerative and Lifestyle Medicine yang telah memberikan dukungan fasilitas dan sarana laboratorium dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga kepada Laboratorium Terpadu Universitas Prima Indonesia dan Laboratorium Fitokimia Universitas Sumatera Utara yang telah memfasilitasi proses analisis selama penelitian berlangsung. Apresiasi juga diberikan kepada semua pihak yang telah membantu, memberikan dukungan, serta kontribusi ilmiah baik secara langsung maupun

tidak langsung sehingga penelitian mengenai penentuan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR REFERENSI

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Departemen Kesehatan RI.
- Gading, K., & Rabima. (2020). Uji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak daun mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara in vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1), 8–18. <https://doi.org/10.52447/inspj.v5i1.1785>
- Irawan, D., Sari, R. P., & Putri, A. R. (2022). Penetapan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun menggunakan metode Folin–Ciocalteu dan DPPH. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(1), 45–52.
- Kalyani, G., & Reddy, D. R. S. (2021). Evaluation of antibacterial and antioxidant potential of *Melia azedarach* Linn. and *Psidium guajava* Linn. leaf extracts. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 10.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Farmakope herbal Indonesia (Edisi II). Kementerian Kesehatan RI.
- Kowalska, T., & Sajewicz, M. (2022). Thin-layer chromatography (TLC) in the screening of botanicals: Its versatile potential and selected applications. *Molecules*, 27(6607).
- Nazirah, R., Handayani, S., & Pratama, A. (2023). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tanaman obat. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 15(4), 876–883.
- Nurhajanah, A., Lestari, D., & Rahmawati, F. (2020). Penetapan kadar fenol total dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun dengan metode DPPH. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 10(2), 89–96.
- 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. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30904>
- Razoki. (2023). Antioxidant and antibacterial activities of ethanol extract of matoa (*Pometia pinnata*) leaves. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 2(6).
- Saifudin, A., Rahayu, V., & Teruna, H. Y. (2011). Standardisasi bahan obat alam. *Graha Ilmu*.
- Sihotang, N., Bangar, R. I., Kaban, V. E., Sembiring, N. B., & Harahap, D. W. S. (2025). Antioxidant activity test of tetanus leaf (*Leea aequata* L.) ethanol extract with DPPH method. *Pharmaceutical and Clinical Journal of Nusantara (PCJN)*, 3(1).
- Touzout, S., Benali, T., & Bouyahya, A. (2023). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Melia azedarach* extracts. *South African Journal of Botany*, 155, 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.01.015>
- Wijanarko, A., Perawati, S., & Andriani, L. (2020). Standardisasi simplisia daun ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), 31–40. <https://doi.org/10.32583/farmasetis.v9i1.736>
- World Health Organization. (2011). Quality control methods for herbal materials. WHO Press.