
**PROFIL FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR AIR (*IMPATIENS BALSAMINA* L.)
MENGUNAKAN METODE ABTS (2,2'-AZINOBIS(3-
ETHYLBENZOTHAZOLINE-6-SULFONIC ACID))**

**Febrisa Salsabila, Jimmy Posangi, Christi Diana Mambo, Fatimawali, Angelina Stevany Regina
Masengi, Edward Nangoy**

Universitas Sam Ratulangi, Indonesia

Email: jimmy.posangi@unsrat.ac.id

Abstrak

Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang dapat memicu berbagai penyakit degeneratif seperti kanker dan penuaan dini. Antioksidan berperan penting dalam menangkal efek negatif radikal bebas melalui mekanisme penghambatan proses oksidasi. Tanaman pacar air dikenal memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti alkaloid, saponin, dan polifenol, yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia dan menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun pacar air yang dibudidayakan di Kecamatan Tombulu, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dan vitamin C sebagai pembanding, serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm. Skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan saponin sebagai antioksidan alami. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak etanol daun pacar air memiliki potensi aktivitas antioksidan yang signifikan dimana pada konsentrasi 100 µg/ml terjadi aktivitas peredaman maksimum sebesar 64,75%, dengan nilai IC₅₀ sebesar 57,482 µg/ml, yang termasuk dalam kategori kuat. Ekstrak etanol daun pacar air mengandung senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan saponin, dengan aktivitas antioksidan yang kuat dengan peredaman maksimum pada konsentrasi 100 µg/ml menggunakan metode ABTS.

Kata kunci: radikal bebas, antioksidan, daun pacar air, fitokimia, ABTS

Abstract

Free radicals are unstable molecules that can trigger various degenerative diseases such as cancer and aging. Antioxidants play an important role in counteracting the negative effects of free radicals through the mechanism of inhibiting the oxidation process. Water henna plant is known to contain phytochemical compounds such as alkaloids, saponins, and polyphenols, which contribute to antioxidant activity. This study aims to determine the content of phytochemical compounds and test the antioxidant activity of ethanol extract of water henna leaves cultivated in Tombulu District, Minahasa Regency, North Sulawesi. Extraction was done using maceration method with 96% ethanol solvent. Phytochemical screening included alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids test. Antioxidant activity test using the ABTS method and vitamin C as a comparison, the absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 743 nm. Phytochemical screening showed the presence of alkaloid, flavonoid, tannin, phenol, and saponin compounds as natural antioxidants. Antioxidant activity test showed that ethanol extract of water henna leaves has significant antioxidant activity potential where at a concentration of 100 µg/ml there was a maximum inhibition activity of 64.75%, with an IC₅₀ value of 57.482 µg/ml, which is included in the strong category. The ethanol extract of water henna leaves contains phytochemical compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins, phenols, and saponins, with strong antioxidant activity with maximum inhibition at a concentration of 100 µg/ml using the ABTS method.

Keywords: free radical; antioxidant; water henna leaves; phytochemical; ABTS



PENDAHULUAN

Bahaya radikal bebas sering menjadi topik pembicaraan akhir-akhir ini. Radikal bebas dapat dihasilkan dari berbagai sumber, seperti polusi udara, asap rokok, paparan sinar ultraviolet, dan konsumsi makanan cepat saji (Jatmiko & Mursiti, 2021; Nurkhasanah *et al.*, 2023). Secara ilmiah, radikal bebas adalah molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang akan bereaksi dengan molekul lain untuk mencapai kestabilan, proses yang dikenal sebagai oksidasi (Damayanti *et al.*, 2024; Poli *et al.*, 2022). Proses ini dapat merusak sel tubuh dan memicu berbagai penyakit seperti kanker, penyakit jantung, dan penuaan dini (Poli *et al.*, 2022). Senyawa yang dapat menangkal efek negatif dari radikal bebas adalah antioksidan (Damayanti *et al.*, 2024). Antioksidan, baik alami maupun sintetis, bekerja dengan mencegah atau memperlambat proses oksidasi, serta menghentikan reaksi berantai yang dipicu oleh radikal bebas (Damayanti *et al.*, 2024; Tangkau *et al.*, 2023).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami adalah pacar air (*Impatiens balsamina* L.) (Qian *et al.*, 2023). Tanaman ini tumbuh subur di Kecamatan Tombulu, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara, yang dikenal dengan keindahan alamnya dan kekayaan sumber daya alam (Minahasa, 2022). Tanaman ini banyak dibudidayakan sebagai tanaman hias dan telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit, seperti rematik, nyeri umum, dan patah tulang (Qian *et al.*, 2023). Tanaman ini mengandung berbagai senyawa aktif, termasuk flavonoid, naphthoquinones, alkaloid, tanin, steroid, saponin, kumarin, antosianidin, peptida, dan lainnya, yang memiliki efek biologis seperti antibakteri, antimikroba, antijamur, analgesik, antiinflamasi, antioksidan, antipruritus, antinosiseptif, penghambatan siklooksigenase-2, antitumor, dan antidiabetes (Pandya & Nallanchakravarthula, 2022; Qian *et al.*, 2023; Ambarsari *et al.*, 2024; Koodkaew & Sukonkhajorn, 2019).

Beberapa studi mengenai tanaman ini telah dilakukan, termasuk penilaian aktivitas antioksidan ekstrak hidroetanol bunga pacar air yang berasal dari Arab Saudi menggunakan metode ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga hidroetanol menunjukkan aktivitas peredaman maksimum sebesar 69% pada konsentrasi 100 µg/ml (Qamer *et al.*, 2024). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tanaman dapat dipengaruhi oleh lokasi geografis yang memengaruhi kandungan senyawa bioaktifnya (Hadi *et al.*, 2022). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dalam ekstrak etanol daun pacar air dari Kecamatan Tombulu, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara, serta mengevaluasi aktivitas antioksidannya menggunakan metode ABTS, dengan fokus pada penentuan nilai IC₅₀ sebagai indikator kekuatan aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus-Desember 2024 di Laboratorium Terpadu Universitas Sam Ratulangi Manado, Laboratorium Forensik Polda Sulut, Laboratorium Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu eksperimental laboratorium yang akan mengidentifikasi senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dengan menggunakan metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonic acid)).

Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas, gunting, corong *Buchner*, blender, timbangan digital, timbangan analitik, spektrofotometer UV-Vis, cawan petri, pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, labu *Erlenmeyer*, ayakan mesh no. 40, labu ukur, batang pengaduk, kertas saring, oven, aluminium *foil*, tisu, *rotary evaporator*, *waterbath*, toples kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, keranjang, *handscoon*, *head cap*, masker, kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) segar, etanol 96%, etanol p.a, ABTS (2,2-Azinobis(3-etil benzothiazoline)-6-sulfonic acid), *aquades*, besi (III) klorida (FeCl_3), serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, kalium persulfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), vitamin C, amonia, kloroform, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, asam asetat ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) glasial, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner.

Pembuatan Serbuk Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.)

Sampel daun pacar air yang digunakan berasal dari Kecamatan Tombulu di Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. Sebanyak 3.700 g sampel segar dikumpulkan, disortir basah, dan kemudian dibersihkan dengan hati-hati di bawah air mengalir. Sampel diiris kecil-kecil dan dibiarkan mengering selama lima hari di ruangan yang jauh dari sinar matahari langsung di atas meja yang dilapisi kertas karton dan karung. Sampel dikeringkan selama satu hari pada suhu 50°C di dalam oven hingga dihasilkan simplisia kering. Sampel yang telah kering disortasi, dikeringkan, dan kemudian digiling menjadi serbuk halus dengan menggunakan blender. Serbuk yang dihasilkan diayak dengan ayakan nomor 40 mesh. Setelah diayak, serbuk yang dihasilkan ditimbang, hasilnya sebanyak 200 g.

Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.)

Ekstraksi daun pacar air dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk ditimbang sebanyak 200 g dan dimasukkan ke dalam wadah kaca tertutup, kemudian ditambahkan dengan larutan etanol 96% sebanyak 1500 ml (1:7,5) (b/v). Campuran tersebut diaduk dan wadah ditutup rapat menggunakan aluminium *foil*. Campuran didiamkan selama tiga hari pada suhu kamar, dengan diaduk sesekali. Larutan disaring menggunakan corong *Buchner* yang telah dilapisi kertas saring, kemudian filtrat ditampung (filtrat I). Total filtrat I yang diperoleh sebanyak 1.110 ml. Filtrat I disimpan di dalam erlenmeyer dan ditutup serta dilapisi aluminium *foil*. Residu yang tersisa diremaserasi dengan 500 ml larutan etanol 96% yang baru dan didiamkan selama dua

hari, campuran diaduk sesekali. Larutan disaring menggunakan corong *Buchner* yang telah dilapisi kertas saring untuk mendapat filtrat II. Total filtrat II yang diperoleh sebanyak 480 ml. Total filtrat I dan II yang diperoleh sebanyak 1.590 ml. Campuran filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan dipanaskan menggunakan *waterbath* dengan suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya ditimbang dan didapatkan ekstrak sebanyak 12,38 g. Ekstrak kemudian dibungkus dengan aluminium *foil* dan disimpan di kulkas.

Profil Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*)

a. Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok dibuat dengan mencampurkan 2 g ekstrak dengan 20 ml etanol 96%.

b. Uji Senyawa Alkaloid

Dua mililiter ekstrak sampel, lima mililiter kloroform, lima mililiter amonia, dan lima tetes H₂SO₄ ditambahkan ke dalam tabung reaksi untuk melakukan uji alkaloid. Setelah dikocok hingga merata, campuran tersebut didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Tiga tabung reaksi dibuat dengan memipet lapisan atas, atau supernatan. Sepuluh tetes reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff diteteskan ke dalam setiap tabung. Produksi endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan coklat pada pereaksi Wagner, dan endapan oranye pada pereaksi Dragendorff merupakan ciri-ciri alkaloid positif (Nurjannah *et al.*, 2022).

c. Uji Senyawa Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan memasukkan 2 ml ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan. Larutan ditambahkan 1 sendok (200 mg) serbuk magnesium serta 3 tetes HCl pekat dan dikocok perlahan. Flavonoid positif jika warna berubah menjadi merah jingga hingga merah ungu (Tangkau *et al.*, 2023).

d. Uji Senyawa Fenol dan Tanin

Sepuluh tetes 1% FeCl₃ ditambahkan ke dalam dua mililiter ekstrak sampel dalam tabung reaksi untuk melakukan uji fenol. Jika larutan berubah menjadi biru atau hijau kehitaman, berarti terdapat fenol (Calvin *et al.*, 2019). Lima tetes 1% FeCl₃ ditambahkan ke dalam dua mililiter ekstrak sampel dalam tabung reaksi untuk melakukan uji tanin. Jika larutan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman, berarti terdapat tanin (Nurjannah *et al.*, 2022).

e. Uji Senyawa Saponin

Uji saponin dilakukan dengan memasukkan 2 ml ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes aquades dan dididihkan selama 10 menit. Larutan didinginkan dan diaduk dengan kuat. Saponin positif apabila terbentuk busa stabil (Robby *et al.*, 2022).

f. Uji Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Untuk melakukan uji steroid, masukkan 2 mililiter ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 mililiter C₂H₄O₂ dan 5 tetes H₂SO₄, lalu tunggu beberapa menit. Menurut Juanda dkk. (2023), triterpenoid positif jika terbentuk warna merah kecoklatan, sedangkan steroid positif jika terbentuk warna hijau-biru.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode ABTS

a. Pembuatan Larutan Stok Daun Pacar Air

Larutan stok 1000 µg/ml disiapkan dengan menimbang 10 mg ekstrak kental daun pacar air secara teliti, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol p.a dalam labu ukur sambil dihomogenkan (Djide *et al.*, 2022).

b. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

Larutan stok 1000 µg/ml disiapkan dengan menimbang 10 mg vitamin C secara teliti, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol p.a dalam labu ukur sambil dihomogenkan (Tangkau *et al.*, 2023).

c. Pembuatan Larutan Stok ABTS 7mM

Untuk menyiapkan larutan stok ABTS, 385 mg bubuk ABTS dan 66 mg bubuk kalium persulfat ($K_2S_2O_8$) ditimbang dan kemudian diencerkan dalam 100 ml air suling. Setelah mencampurkan kedua larutan tersebut dan menutupnya dengan aluminium foil untuk mencegah paparan cahaya, kedua larutan tersebut diinkubasi selama 12 hingga 16 jam di tempat yang terlindung dari cahaya hingga larutan tersebut seragam dan reaksinya sempurna (Tangkau *et al.*, 2023). Setelah itu, etanol ditambahkan ke dalam larutan secara bertahap hingga absorbansi pada 743 nm menjadi $0,70 \pm 0,02$ (Benkhaira *et al.*, 2022).

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ABTS

Setelah memipet 1 ml larutan ABTS ke dalam labu ukur 5 ml, etanol ditambahkan sesuai kebutuhan. Selama setengah jam, larutan diinkubasi. Dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diatur pada panjang gelombang antara 400 dan 800 nm, ukur serapan hingga panjang gelombang maksimum tercapai (Alim *et al.*, 2023).

e. Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Vitamin C

Untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/ml, 10 mg vitamin C dilarutkan dalam 10 ml etanol. Larutan stok dipipet masing-masing 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml, kemudian ditambahkan etanol sampai volume total mencapai 10 ml. Dengan demikian, konsentrasi akhir yang dihasilkan adalah 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, dan 100 µg/ml. Campuran didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar sebelum absorbansi masing-masing larutan diukur sebanyak tiga kali pada panjang gelombang 743 nm (Tangkau *et al.*, 2023; Damayanti *et al.*, 2024).

f. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Menggunakan Metode ABTS

Ekstrak daun pacar air sebanyak 10 mg dilarutkan dalam etanol 10 ml untuk menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Larutan kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi masing-masing 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, dan 100 µg/ml, dihitung menggunakan rumus pengenceran:

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

Setelah memipet 0,1 ml masing-masing konsentrasi ke dalam tabung reaksi, 2 ml larutan ABTS dan 2 ml etanol p.a. ditambahkan. Setelah membiarkan kombinasi tersebut tetap berada

pada suhu kamar selama setengah jam, ukur absorbansi masing-masing larutan sebanyak tiga kali pada panjang gelombang 743 nm (Tangkau et al., 2023; Damayanti et al., 2024).

Analisis Data

Data aktivitas antioksidan penangkal radikal bebas ABTS dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{peredaman} = \left(\frac{A \text{ Blanko} - A \text{ Ekstrak}}{A \text{ Blanko}} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

A Blanko = Absorbansi tidak mengandung sampel

A Ekstrak = Absorbansi ekstrak

Nilai IC₅₀ dihitung pada saat nilai % peredaman sebesar 50% dengan menggunakan persamaan:

$$y = ax + b$$

sehingga:

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

Keterangan:

y = Absorbansi sampel (50)

a = Titik potong kurva pada sumbu y (*Intercep*)

b = Kemiringan kurva (*Slope*)

x = Konsentrasi sampel (IC₅₀)

Kategori kekuatan aktivitas antioksidan menurut Molyneux (2004) terdiri atas kategori sangat kuat (<50 µg/mL), kuat (50–100 µg/mL), sedang (101–150 µg/mL), lemah (151–200 µg/mL), dan sangat lemah (>200 µg/mL) (Tangkau et al., 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.)

Determinasi tanaman pacar air dilakukan di Bagian Taksonomi Tumbuhan FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado. Tanaman dikonfirmasi sebagai *Impatiens balsamina* L., anggota famili Balsaminaceae.

Pembuatan Serbuk Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.)

Sampel daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang digunakan berasal dari Kecamatan Tombulu, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara, diambil pada Kamis, 31 Oktober 2024. Proses pengambilan daun dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan tanaman mulai berbunga atau buah menjadi matang (Marjoni & Saifuddin, 2022). Daun dipetik pada pagi hari dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang tinggi dan karena belum banyak terjadi penguapan sehingga daun masih segar (Evifania et al., 2020).

Untuk memisahkan sampel dari bahan asing seperti kotoran, kerikil, atau rumput, serta komponen tanaman lain yang tidak digunakan, sampel daun pacar air yang telah dipanen disortir basah (Marjoni & Saifuddin, 2022). Sebanyak 3.700 g sampel daun dikumpulkan, dan

dibersihkan dengan benar di bawah air mengalir. Untuk menghindari perkembangan mikroba yang dapat merusak sampel, menghentikan aktivitas enzim yang dapat memecah kandungan bahan aktif, dan membuat langkah selanjutnya lebih mudah untuk dikontrol, sampel kemudian dikeringkan untuk menurunkan kadar air (Wijaya & Noviana, 2022). Selama lima hari, daun dijauhkan dari sinar matahari langsung di atas meja yang dilapisi kertas karton dan karung. Untuk meningkatkan luas permukaan dan mempercepat proses pengeringan, sampel yang telah dikeringkan dibagi menjadi potongan-potongan kecil (Sosilowati & Sari, 2020). Setelah itu, sampel dikeringkan selama satu hari pada suhu 50°C di dalam oven untuk menghasilkan simplisia. Sampel dikeringkan, disortasi, dan kemudian digiling menjadi serbuk halus menggunakan blender (Maakh et al., 2021). Memisahkan kontaminan, benda asing, atau simplisia yang belum kering merupakan tujuan dari sortasi kering (Arsyad et al., 2023). Untuk menghasilkan serbuk yang konsisten dan tidak terlalu halus maupun kasar, serbuk selanjutnya diayak menggunakan ayakan mesh no. 40 (Ni'ma & Lindawati, 2022).

Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*)

Dengan menggunakan pelarut etanol 96%, metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi simplisia daun pacar air. Metode maserasi merupakan teknik ekstraksi dingin dimana pelarut masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif setelah menembus dinding sel tanaman. Hal ini menyebabkan larutan pekat yang merupakan zat aktif terdesak keluar dari sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Hasnaeni et al., 2019). Maserasi dipilih karena peralatan dan pengerjaannya yang sederhana, serta tidak merusak senyawa yang tidak tahan panas (Sukmawati et al., 2019).

Etanol 96% digunakan sebagai pelarut. Karena gugus OH pada etanol membantu pelarutan molekul dan ion polar serta gugus alkilnya, CH₃CH₂, memiliki kemampuan untuk mengikat bahan nonpolar, maka etanol dipilih sebagai pelarut (Sukmawati et al., 2020). Etanol memiliki polaritas 5,2, menjadikannya pelarut yang lebih universal yang dapat menarik molekul metabolit sekunder yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar (Widyaningrum et al., 2020). Karena pelarut polar akan melarutkan bahan kimia polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, maka prinsip kelarutan menyatakan bahwa like dissolves like (Arsa & Achmad, 2020). Manfaat lain dari etanol 96% adalah titik didihnya yang rendah sehingga mudah menguap, tidak beracun, netral, dan aman bagi lingkungan (Ni'ma & Lindawati, 2022).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam 200 g serbuk simplisia daun pacar air dengan pelarut etanol 96% ke dalam wadah kaca hingga serbuk terendam sempurna. Wadah kaca ditutup rapat menggunakan aluminium foil guna mencegah penguapan pelarut (Dewi et al., 2021). Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan diremaserasi selama 2 x 24 jam dengan sesekali diaduk yang bertujuan agar mencapai keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat ke dalam cairan (Afifah et al., 2023). Remaserasi bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang tertinggal pada ampas sekaligus menghilangkan zat pengotor pada saat perendaman kembali (Lindawati & Ma'ruf, 2020). Filtrat hasil maserasi dan remaserasi selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C, kemudian

dipekatkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 40°C hingga menjadi ekstrak kental. Proses evaporasi bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol yang terdapat pada filtrat (Nurjannah *et al.*, 2022). Penguapan dilakukan dengan suhu 40°C dikarenakan untuk mencegah senyawa yang rusak jika menggunakan suhu yang tinggi (Nopitasari & Wijaya, 2018). Proses pemekatan bertujuan untuk mempermudah proses penguapan pelarut sehingga dapat memisahkan pelarut dengan filtrat yang diperoleh, dan didapatkan ekstrak kental (Ni'ma & Lindawati, 2022).

Profil Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*)

Untuk mengetahui jumlah kandungan kimia metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kental daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*), maka ekstrak tersebut dilakukan skrining fitokimia. Pemeriksaan kualitatif terhadap komposisi kimia tanaman, khususnya keberadaan metabolit sekunder - zat bioaktif seperti alkaloid, antrakuinon, flavonoid, kumarin, saponin, tanin, polifenol, dan minyak atsiri - dikenal dengan skrining fitokimia (Kusumo *et al.*, 2022).

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff, diperoleh hasil positif karena terbentuk endapan pada sampel dengan pereaksi Wagner dan pereaksi Dragendorff, sedangkan pada pereaksi Mayer tidak terbentuk endapan putih. Pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih jika nitrogen dalam senyawa alkaloid berikatan dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II), membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pereaksi Wagner membentuk endapan coklat akibat ikatan antara ion logam K^+ dari kalium iodida dengan nitrogen dalam senyawa alkaloid sehingga menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan jingga, karena nitrogen dalam senyawa alkaloid berikatan kovalen dengan ion logam K^+ dari tetraiodobismutat, membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Calvin *et al.*, 2019). Pemeriksaan alkaloid dikatakan positif apabila alkaloid jika reaksi positif yang membentuk endapan sekurang-kurangnya dua reaksi dari golongan reaksi pengendapan yang dilakukan (Surbakti *et al.*, 2018). Uji alkaloid pada penelitian ini dikatakan positif karena terbentuk endapan pada dua pereaksi.

Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk Mg dan HCl pekat, diperoleh hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi merah jingga. Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol, dan xanton (Robby *et al.*, 2022).

Uji tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi $FeCl_3$, diperoleh hasil positif karena menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Warna hijau kehitaman terbentuk akibat reaksi antara tanin dan ion Fe^{3+} yang menghasilkan senyawa kompleks. Senyawa kompleks ini terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara atom logam (logam pusat) dan atom non-logam (atom donor). Warna hijau kehitaman muncul pada tanin terkondensasi, sedangkan warna biru kehitaman terlihat pada tanin terhidrolisis (Prananda *et al.*, 2015; Kusumo *et al.*, 2022; Nurjannah *et al.*, 2022).

Uji polifenol dilakukan dengan menggunakan pereaksi $FeCl_3$, diperoleh hasil positif karena menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Warna hijau kehitaman terbentuk sebagai hasil reaksi antara polifenol dan ion Fe^{3+} yang menghasilkan senyawa kompleks. Polifenol mampu melepaskan ion H^+ dan membentuk ion fenoksi, yang kemudian

bereaksi dengan FeCl_3 untuk membentuk senyawa kompleks besi (III) heksafenolat (Pricilia *et al.*, 2018; Kusumo *et al.*, 2022).

Uji saponin dilakukan dengan menggunakan pereaksi *aquades* yang dipanaskan, diperoleh hasil positif karena terbentuk busa stabil. Pemanasan *aquades* bertujuan untuk meningkatkan kelarutan saponin dalam air, karena saponin merupakan senyawa yang mudah larut dalam *aquades* dan dapat menghasilkan busa ketika dikocok. Uji saponin menghasilkan busa karena glikosida yang memiliki gugus hidrofob, seperti aglikon (steroid atau triterpenoid), terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Luhulima *et al.*, 2022; Juanda *et al.*, 2023).

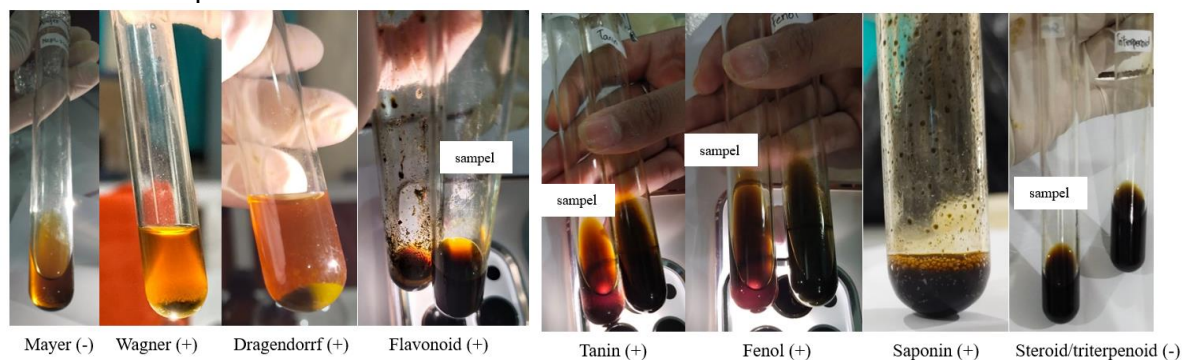
Uji steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan pereaksi asam sulfat (H_2SO_4) dan asam asetat ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) glasial, diperoleh hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil, sementara penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil sehingga membentuk larutan warna. Steroid akan terbentuk warna hijau-biru, sedangkan triterpenoid akan terbentuk warna merah keunguan (Sulistyarini *et al.*, 2020).

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Air

Senyawa Aktif	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak terdapat endapan warna putih kekuningan
	Wagner	+	Terdapat endapan warna coklat
	Dragendorff	+	Terdapat endapan warna jingga
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	+	Terjadi perubahan warna merah jingga
Tanin	FeCl_3	+	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Fenol	FeCl_3	+	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Saponin	<i>Aquadest</i>	+	Terbentuk buih stabil
Steroid	H_2SO_4 + $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	-	Tidak terjadi perubahan warna menjadi hijau-biru
Triterpenoid	H_2SO_4 + $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	-	Tidak terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan

Sumber: data diperoleh



Gambar 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Air

Hasil penelitian yang diperoleh memiliki perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hadi, *et al.* Penelitian tersebut menggunakan daun pacar air yang diperoleh dari Jakarta dan mendapat hasil positif pada senyawa steroid (Hadi *et al.*, 2020). Perbedaan kandungan senyawa aktif yang diperoleh dalam suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh letak geografis, ketinggian wilayah, suhu wilayah, kesuburan tanah, dan pH tanah (Yulia *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode ABTS

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pacar (*Impatiens balsamina L.*) menggunakan metode ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) yang merupakan senyawa radikal dengan pusat nitrogen yang mempunyai karakteristik warna biru-hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk non radikal dari berwarna menjadi tidak berwarna (Poli *et al.*, 2022). Prinsip metode ini ialah mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan menentukan kemampuan ekstrak etanol daun pacar air dalam meredam radikal ABTS. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm sehingga diperoleh nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory concentration*) (Tangkau *et al.*, 2023). Panjang gelombang 743 nm merupakan panjang gelombang maksimum ABTS yang didapat pada penelitian ini. Panjang gelombang maksimum menghasilkan serapan paling optimal dari larutan uji dan memberikan sensitivitas tertinggi sehingga diharapkan dapat diperoleh nilai absorbansi yang maksimal dari sampel (Alim *et al.*, 2023).

Metode ABTS memiliki beberapa keunggulan dibandingkan metode lainnya, yaitu prosedur pengujiannya yang sederhana, mudah direplikasi, menggunakan peralatan yang simpel, serta fleksibel karena dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan baik yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik (Anwar *et al.*, 2022; Poli *et al.*, 2022). Metode ABTS memiliki keunggulan berupa reaksi yang cepat dengan antioksidan, fleksibilitas yang tinggi sehingga dapat digunakan pada berbagai rentang pH, serta kemampuannya larut dalam pelarut polar maupun nonpolar (Djide *et al.*, 2022).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pacar air menggunakan lima konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml, dimana pada masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dan vitamin C sebagai pembanding. Vitamin C digunakan karena berperan sebagai antioksidan sekunder yang bekerja dengan menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Kemampuan ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksi bebas pada vitamin C yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas, sementara keberadaan gugus polihidroksi dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya (Tangkau *et al.*, 2023).

Sebelum larutan sampel diuji pada alat spektrofotometer UV-Vis, sampel diinkubasi terlebih dahulu pada suhu ruang dengan cara menutup sampel dengan aluminium *foil* selama 30 menit. Aluminium *foil* digunakan karena metode ABTS sangat sensitif terhadap cahaya (Djide *et al.*, 2022). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan inkubasi pada suhu ruang, karena pada suhu ini reaksi antara radikal ABTS dan senyawa metabolit sekunder terjadi secara optimal (Tangkau *et al.*, 2023).

Larutan blanko ABTS pada pengujian aktivitas antioksidan berfungsi untuk mengukur jumlah serapan dari larutan yang tidak mengandung analit (Putri & Mahfur, 2023). Selisih antara absorbansi ABTS yang direduksi oleh sampel dan absorbansi kontrol menunjukkan sisa radikal ABTS yang terdeteksi pada spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar selisihnya, semakin tinggi efektivitas antioksidan dari sampel (Tangkau *et al.*, 2023). Absorbansi blanko

ABTS yang diperoleh yaitu 0,765. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS

Larutan Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Percobaan			Rata-rata absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀
		I	II	III			
Ekstrak etanol daun pacar air	20	0,520	0,522	0,524	0,522	31,76	57,482 µg/ml
	40	0,409	0,407	0,407	0,408	46,71	
	60	0,366	0,365	0,364	0,365	52,29	
	80	0,311	0,310	0,310	0,310	59,43	
	100	0,270	0,270	0,269	0,270	64,75	
Vitamin C	20	0,382	0,383	0,385	0,383	49,89	15,927 µg/ml
	40	0,303	0,304	0,303	0,303	60,35	
	60	0,253	0,254	0,282	0,263	65,62	
	80	0,212	0,211	0,211	0,211	72,37	
	100	0,154	0,166	0,165	0,162	78,87	

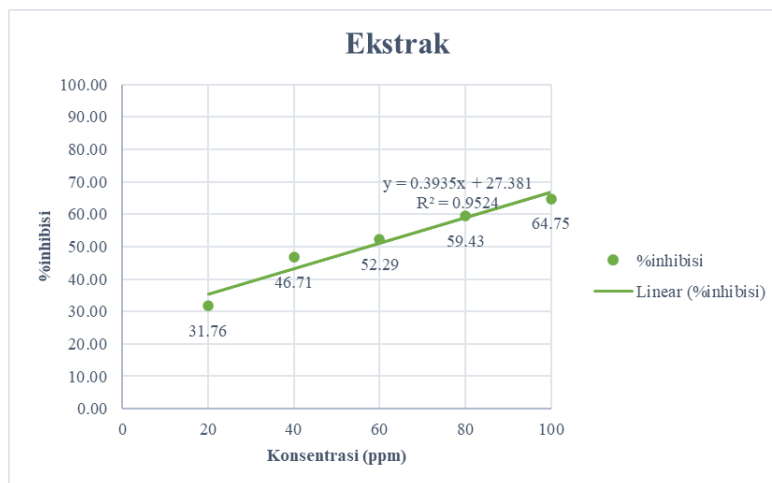
Sumber: data diperoleh

Berdasarkan Tabel 2., didapatkan hasil pengukuran rata-rata absorbansi Vitamin C dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml secara berturut-turut yaitu 0,383; 0,303; 0,263; 0,211; 0,162; dan persen inhibisi secara berturut-turut yaitu 49,89%, 60,35%, 65,62%, 72,37%, 78,87%. Dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansi semakin menurun dan persen inhibisi meningkat. Penurunan nilai absorbansi ABTS dan peningkatan persen inhibisi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan, yang ditandai dengan perubahan warna ABTS dari biru-hijau menjadi tidak berwarna akibat reaksi dengan larutan uji (Yulliana, 2023; Damayanti *et al.*, 2024). Didapatkan juga hasil pengukuran rata-rata absorbansi sampel dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml secara berturut-turut yaitu 0,522; 0,408; 0,365; 0,310; 0,270; dan persen inhibisi secara berturut-turut yaitu 31,76%, 46,71%, 52,29%, 59,43%, 64,75%. Dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansi semakin menurun dan persen inhibisi meningkat. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 100 µg/ml terjadi aktivitas peredaman maksimum sebesar 64,75%. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Qamer, *et al.*, dimana dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100 µg/ml terjadi aktivitas peredaman maksimum sebesar 69% (Qamer *et al.*, 2024).

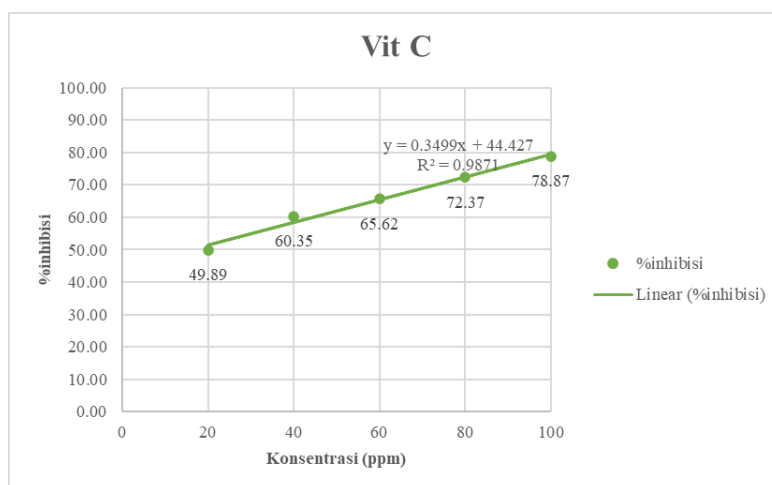
Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun pacar air dan vitamin C diperoleh melalui perhitungan menggunakan persamaan regresi linier. Koefisien y pada persamaan tersebut merepresentasikan IC₅₀, sedangkan koefisien x menunjukkan konsentrasi sampel yang dihitung, dimana nilai dari x yang diperoleh menggambarkan konsentrasi yang diperlukan untuk meredam 50% aktivitas radikal ABTS. Nilai IC₅₀ dapat dihitung dari persamaan regresi linier yang sebelumnya telah diperoleh dengan mengganti y dengan 50 pada persamaan tersebut. Nilai IC₅₀ merupakan suatu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Tangkau *et al.*, 2023; Damayanti *et al.*, 2024).

Berdasarkan hasil perhitungan IC₅₀ pada ekstrak etanol daun pacar air didapatkan hasil sebesar 57,482 µg/ml dan termasuk kategori kuat (50-100 µg/ml). Grafik dari hasil uji ekstrak etanol daun pacar air bisa dilihat pada Gambar 2. Hasil perhitungan IC₅₀ vitamin C didapatkan hasil sebanyak 15,927 µg/ml dan termasuk dalam kategori sangat kuat (<50 µg/ml). Grafik dari

hasil uji vitamin C bisa dilihat pada Gambar 3. Dapat terlihat bahwa ekstrak etanol daun pacar air memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan vitamin C sebagai kontrol mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki kemampuan penghambatan lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun pacar air.



Gambar 2. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*)



Gambar 3. Grafik Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) mengandung senyawa fitokimia aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan saponin yang berperan sebagai antioksidan alami. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pacar air yang diuji menggunakan metode ABTS menunjukkan hasil yang signifikan, dengan persentase peredaman maksimum sebesar 64,75% pada konsentrasi 100 µg/ml dan IC_{50} sebesar 57,482 µg/ml termasuk dalam kategori kuat, meskipun masih lebih rendah dibandingkan vitamin C yang memiliki IC_{50} sebesar 27,324 µg/ml dan termasuk dalam kategori sangat kuat. Hasil ini

mengindikasikan bahwa daun pacar air memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi di bidang kesehatan dan farmasi. Penelitian ini memberikan dasar yang kuat untuk eksplorasi lebih lanjut terhadap manfaat daun pacar air dalam menangkal radikal bebas dan mencegah penyakit degeneratif terkait stres oksidatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N., Riyanta, A. B., & Amananti, W. (2023). Pengaruh waktu maserasi terhadap hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun mangga harum manis (*mangifera indica* l.). *Jurnal Crystal : Publikasi Penelitian Kimia Dan Terapannya*, 5(1), 54–61. <https://doi.org/10.36526/jc.v5i1.2634>
- Alim, N., Noer, S. F., Daniati, W., & Irfayanti, N. A. (2023). Aktivitas antioksidan klica awar-awar (*ficus septica* Burm . f) asal tanah buton selatan dengan metode abts. *Jurnal Novem Medika Farmasi*, 1(3), 1–13. Retrieved from <https://journal-uim-makassar.ac.id/index.php/junomefar/article/view/541>
- Ambarsari, N., Subagiyo, A., & Damayanti, R. (2024). Formulasi dan evaluasi sediaan kosmetik lip balm dari ekstrak etanol daun pacar air (*impatiens balsamina* l.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 6(2), 154–163. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i2.26956>
- 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*, 22(2), 161–171. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i2.43913>
- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi minyak atsiri dari rimpang temu ireng (*curcuma aeruginosa* roxb) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Teknologi Technoscintia*, 13(1), 83–94. <https://doi.org/10.34151/technoscintia.v13i1.3037>
- Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. (2023). Teknik pembuatan dan nilai rendamen simplisia dan ekstrak etanol biji bagore (*caesalpinia crista* l.) asal polewali mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 138–147.
- Benkhaira, N., Koraichi, S. I., & Fikri-Benbrahim, K. (2022). In vitro methods to study antioxidant and some biological activities of essential oils: a review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(3), 3332–3347. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.33323347>
- Calvin, L., Nurmainah, & Riza, H. (2019). Karakterisasi dan skrining fitokimia infusa kulit buah nanas (*ananas comosus* (l.) merr.) pada variasi usia kematangan buah. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1–15.
- Damayanti, R., Hasan, T., & Iqbal, M. (2024). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bawang putih (*allium sativum* L.) dengan metode abts. *Jurnal Novem Medika Farmasi*, 3(1), 11–20. <https://doi.org/10.59638/junomefar.v3i1869>
- Dewi, M. C., Kusumaningtyas, N. M., & Kurniawan. (2021). Studi pengaruh variasi konsentrasi pelarut maserasi terhadap kadar senyawa flavonoid teh hijau (*camelia sinensis*). *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 5(1), 67–72.
- Djide, M. N., Mubarak, F., & Natasya, R. (2022). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang bangle (*zingiber cassumunar* roxb) dengan metode abts [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline)-6- sulfonic acid]. *Jurnal Inovasi Pendidikan Dan Sains*, 3(1), 28–32.

- Evifania, R. D., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani (*melastoma malabathricum* l.). *Jurnal Cerebellum*, 6(1), 17–20. <https://doi.org/10.26418/jc.v6i1.43348>
- Hadi, F. W., Setyaningsih, Y., & Citrawati, M. (2020). Uji efektivitas ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina*) terhadap mortalitas larva *aedes aegypti*. *Seminar Nasional Riset Kedokteran (SENSORIK)*, 1(1), 287–294.
- Hadi, I., Nurfazera, A., & Rohmatika, N. (2022). Perbandingan kandungan fitokimia fraksi etil asetat daun kemangi (*ocimum basilicum* folium) dengan perbedaan ketinggian geografis tumbuh. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 7(1), 31–36.
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendeman dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*lunasia amara blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Jatmiko, M. P., & Mursiti, S. (2021). Isolation, identification, and activity test of flavonoid compounds in jamblang leaves (*syzygium cumini* l.) skeel as antioxidants. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 10(2), 129–138.
- Juanda, A. P., Ismail, Guswenrivo, I., & Laksono, H. S. D. (2023). Skrining fitokimia dan ekstraksi senyawa azadirachtin dari ampas biji mimba. *Warta Akab*, 47(1), 33–40. <https://doi.org/10.55075/wa.v47i1.189>
- Koodkaew, I., & Sukonkhajorn, P. (2019). Anti-tyrosinase and antioxidant activities of *Impatiens balsamina* L. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 41(3), 686–692. <https://doi.org/10.14456/sjst-psu.2019.63>
- Kusumo, D. W., Ningrum, E. K., & Makayasa, C. H. A. (2022). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga pepaya (*carica papaya* l.). *Journal Of Current Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 478–483.
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan kadar total flavonoid ekstrak etanol kacang merah (*phaseolus vulgaris* l.) dengan metode kompleks kolorimetri secara spektrofotometri visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83–91. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i1.312>
- Luhulima, A., Niwele, A., & Kadimas, S. S. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% anggur laut (*caulerpa racemosa*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1), 170–179. <https://doi.org/10.55606/jrik.v2i1.1443>
- Maakh, Y. F., Kapitan, L. A. V., & Penasti, Y. (2021). Standar ekstrak etanol mesocarp buah lontar (*borrassus* sp.). *Jurnal FarmasiKoe*, 4(2), 19–25.
- Marjoni, R., & Saifuddin, I. R. (2022). *Konsep-konsep dasar farmakognosi & fitokimia*. Yogyakarta: PUSTAKA BARU PRESS.
- Minahasa, B. K. (2022). *Kecamatan tombulu dalam angka*. Minahasa: CV. Bahu Bahtera Indah.
- Ni'ma, A., & Lindawati, N. Y. (2022). Analisis kadar total flavonoid ekstrak etanol daun adas (*foeniculum vulgare*) secara spektrofotometri visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis (JFSP)*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.4972>
- Nopitasari, R., & Wijaya, A. (2018). Uji aktivitas ekstrak etanol daun cincau hitam (*mesona palustris* bl) sebagai antidiare pada mencit jantan galur swiss, 2–10.
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining fitokimia dan uji antibakteri ekstrak kombinasi daun jeruk purut (*citrus hystrix*) dan kelor (*moringa oleifera* l.) sebagai

- zat aktif pada sabun antibakteri. *Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1), 23–36. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i1.4801>
- Nurkhasanah, Bachri, M. S., & Yuliani, S. (2023). *Antioksidan dan Stres Oksidatif*. (G. A. Sabilla, Ed.). Yogyakarta: UAD PRESS.
- Pandya, P., & Nallanchakravarthula, S. (2022). Determination of the quantitative phytochemical screening and antioxidant activity of impatiens balsamina l. leaves and flower under heavy metal stress (nickel). *Environment and Ecology*, 40(1), 146–155.
- Poli, A. R., Katja, D. G., & Aritonang, H. F. (2022). Potensi antioksidan ekstrak dari kulit biji matoa (pometia pinnata j. r & g. forst). *Chem. Prog.*, 15(1), 25–30. <https://doi.org/10.35799/cp.15.1.2022.43151>
- Prananda, Y., Riza, H., Fajriaty, I., Nasrullah, & Hasibuan, V. M. (2015). Skrining fitokimia ekstrak etanol daun simpur (dillenia indica l.) sebagai tahapan awal pada pengujian toksisitas. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3(2), 1–13.
- Pricilia, S., Astuti, W., & Marliana, E. (2018). Skrining bakteri endofit penghasil amilase, lipase, dan protease dari daun macaranga hullettii king ex hook.f. *Jurnal Atomik*, 3(2), 102–105.
- Putri, I. A., & Mahfur. (2023). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% batang nilam (pogostemon cablin benth.) dengan metode dpfh. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research*, 1(November), 1–16.
- Qamer, S., Bakar, I., & Alsanousi, N. (2024). Antioxidant drugs from hydro-ethanolic floral extracts of impatiens balsamina l.:in vitro analysis. *The New Armenian Medical Journal*, 8(3), 106–111. <https://doi.org/10.56936/18290825-3.v18.2024-106>
- Qian, H., Wang, B., Ma, J., Li, C., Zhang, Q., & Zhao, Y. (2023). Impatiens balsamina: an updated review on the ethnobotanical uses, phytochemistry, and pharmacological activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 303, 1–32. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115956>
- Robby, O., Fransisca, G., & Tunik, S. (2022). Pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kelor (moringa oleifera lamk) terhadap efek antiinflamasi sediaan emulgel. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 13(1), 444–452.
- Sosilowati, & Sari, I. N. (2020). Perbandingan kadar flavonoid total seduhan daun benalu cengkeh (dendrophthoe petandra l.) pada bahan segar dan kering. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 9(2), 33–40.
- Sukmawati, Nurnaningsih, & Pratama, M. (2020). Uji aktivitas ekstrak etanol daun kersen (muntingia calabura l.) sebagai inhibitor enzim α -glukosidase dengan menggunakan elisa reader. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(2), 1–5. <https://doi.org/10.33096/jffi.v7i2.506>
- Sukmawati, S., Widiastuti, H., & Miftahuljanna. (2019). Analisis kadar kuersetin pada ekstrak etanol daun miana (plectrantu scutellarioides (l.) r.br.) secara hplc (high performance liquid chromatography). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(1), 38–44.
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (hylocereus polyrhizus). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5(1), 56–62.
- Surbakti, P. A. A., Queljoe, E. De, & Boddhi, W. (2018). Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol daun binahong (andredera cordifolia (ten.) steenis) dengan metode brine shrimp lethality test (bslt). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(3), 22–31.
- Tangkau, M. I., Fatimawali, F., & Suoth, E. J. (2023). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang lengkuas putih (alpinia galanga) dengan metode abts. *Pharmaccon*, 12(3), 358–366. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49216>

- Widyaningrum, I., Wibisono, N., & Kusumawati, A. H. (2020). Effect of extraction method on antimicrobial activity against staphylococcus aureus of tapak liman (*elephantopus scaber* L.) leaves. *International Journal of Health & Medical Sciences*, 3(1), 105–110.
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan kadar air simplisia daun kemangi (*ocimum basilicum* L.) berdasarkan perbedaan metode pengeringan. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 185–195.
- Yulia, Y., Idris, I., & Rahmadina, R. (2022). Skrining fitokimia dan penentuan kadar flavonoid daun kelor (*moringa oleifera* L.) desa dolok sinumbah dan raja maligas kecamatan hutabayu raja. *KLOROFIL*, 6(1), 49–56. <https://doi.org/10.21608/pshj.2022.250026>
- Yulliana, T. I. (2023). Formulasi dan uji antioksidan sheet mask ekstrak brokoli (*brassica oleracea* var. *italica*) dengan metode abts. *An-Najat: Jurnal Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 1(4), 10–28. <https://doi.org/10.59841/an-najat.v1i4.420>