



Phenolics and Flavonoids Content of *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Leaves Fractions using Microplate Based Assay

Ni P.E. Hikmawanti*, Agustin Yumita, Muhammad Rafiq, Lusiana Lusiana

Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA,
 DKI Jakarta 13460, Indonesia

Submitted 22 September 2021; Revised 7 January 2022; Accepted 14 January 2022; Published 20 February 2023

*Corresponding author: ermy0907@uhamka.ac.id

Abstract

Epiphyllum oxypetalum (DC.) or Wijaya Kusuma (Cactaceae) is an ornamental plant which is known to contain polyphenol compounds. The purpose to determine the levels of total phenolic and flavonoid compounds in the fractions of Wijaya Kusuma leaves using microplate-based assay. Each sample was determined phenolic content with Folin-ciocalteu reagent and flavonoid content using $AlCl_3$ on the microplate. Absorption was measured using a microplate reader. Screening of DPPH radical scavenging activity was identified using the TLC method. The results showed that the extract and fractions of the leaves of Wijaya Kusuma contained phenolic and flavonoid compounds. The ether fraction had the highest phenolic content ($35,912 \pm 0,54776$ mgGAE/g) and flavonoids ($0,773 \pm 0,008$ mgQE/g) compared to other fractions (ether > water > ethyl acetate fraction). There is one yellow spot with an Rf value of 0,85 in the ether fraction which is thought to be a compound capable of scavenging the DPPH radicals. The ether fraction of Wijaya Kusuma leaves has potential as a source of polyphenols with antioxidant activity. However, further research is needed to evaluate the antioxidant capacity in the ether fraction of Wijaya Kusuma leaves.

Keywords: Antioxidant, *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw, Flavonoids, Fraction, High-throughput Microplate Assay, Phenolics.

Kadar Fenolik dan Flavonoid Fraksi Daun *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) menggunakan Pengujian Berbasis *Microplate*

Abstrak

Epiphyllum oxypetalum (DC.) atau Wijaya Kusuma (Cactaceae) merupakan tanaman hias yang diketahui memiliki kandungan senyawa polifenol. Tujuan untuk menentukan kadar senyawa fenolik dan flavonoid total pada fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma menggunakan pengujian berbasis *microplate*. Masing-masing sampel ditentukan kadar fenolik dengan pereaksi Folin-ciocalteu dan kadar flavonoid menggunakan $AlCl_3$ pada *microplate*. Serapan diukur menggunakan *microplate reader*. Penapisan aktivitas peredaman radikal DPPH diidentifikasi dengan menggunakan metode KLT. Hasil menunjukkan ekstrak dan semua fraksi daun Wijaya Kusuma mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Fraksi eter memiliki kadar fenolik ($35,912 \pm 0,54776$ mgGAE/g) dan flavonoid ($0,773 \pm 0,008$ mgQE/g) tertinggi dibandingkan fraksi lainnya (fraksi eter > air > etil asetat). Terdapat satu bercak berwarna kuning dengan nilai Rf 0,85 pada fraksi eter yang diduga merupakan senyawa yang mampu meredam radikal DPPH. Fraksi eter daun Wijaya Kusuma berpotensi sebagai sumber polifenol dengan aktivitas antioksidan. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan dalam fraksi eter daun Wijaya Kusuma.

Kata Kunci: Antioksidan, *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw, Flavonoid, Fraksi, *High-throughput Microplate Assay*, Fenolik.

1. Pendahuluan

Tanaman hias *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) merupakan kelompok kaktus yang di Indonesia dikenal dengan nama Wijaya Kusuma. Beberapa aktivitas farmakologi dari ekstrak etanol daun Wijaya Kusuma telah berhasil dilaporkan, antara lain sebagai antiinflamasi¹, penyembuh luka pada mencit diabetes², anti radikal bebas³, dan lain sebagainya. Daun Wijaya Kusuma mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, fenolik, alkaloid, flavonoid, sterol, dan saponin⁴. Dandekar et al. (2015) melaporkan bahwa secara dominan daun Wijaya Kusuma mengandung senyawa steroid⁵. Fenolik dan flavonoid merupakan sumber antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman^{6,7}, termasuk Wijaya Kusuma. Ekstrak etanol daun Wijaya Kusuma telah dilaporkan memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dan penghambatan dari kapasitas penangkap Hidrogen Peroksida (H₂O₂) dibandingkan ekstrak airnya³.

Potensi daun Wijaya Kusuma untuk dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai tanaman obat belum banyak dikaji serta masih terbatas pada bentuk ekstraknya, sementara bentuk fraksinya belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar total fenolik dan flavonoid sebagai senyawa antioksidan pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma dengan menggunakan pengujian berbasis *microplate*. Teknik ini mampu menganalisis kadar senyawa polifenolik dengan jumlah sampel yang banyak dalam sekali pengujian sehingga memperoleh hasil yang cepat dan akurat jika dibanding cara konvensional menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penapisan cepat dengan jumlah sampel yang banyak untuk memperoleh kadar senyawa menggunakan metode sederhana dengan hasil yang akurat tentu sangat diperlukan untuk menghemat waktu dan biaya penelitian^{8,9}. Melalui penelitian ini, fraksi dari ekstrak etanol daun Wijaya Kusuma dengan kadar fenolik dan flavonoid tertinggi kemudian dilakukan penapisan untuk mengetahui kemampuannya dalam meredam radikal DPPH menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

2.1. Alat

Wadah maserasi berupa toples kaca, *vacuum rotary evaporator* (Eyela), timbangan analitik (Ohaus), *microplate* 96-sumuran (Iwaki), mikropipet (Eppendorf), iMark™ *Microplate Absorbance Reader* (BioRad), *Chamber* KLT (Duran), dan alat-alat gelas (Pyrex) yang umum digunakan di laboratorium.

2.2. Bahan

Daun Wijaya Kusuma yang diperoleh dari Desa Ciapus, Kecamatan Ciomas, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Daun dipanen pada bulan Januari 2021 saat musim penghujan. Tanaman kemudian dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor dengan nomor surat: B-246/IV/DI.01/2/2021. Pembanding yang digunakan yaitu: asam galat (MarkHerb) dan kuersetin (Sigma-aldrich). Pelarut-pelarut yang digunakan antara lain: etanol 96% (Merck), metanol p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), eter p.a (Merck), n-heksana p.a (Merck) dan aquades. Bahan kimia yang digunakan antara lain: pereaksi *Dragendorff*, *Mayer*, *Bouchardat*, *Lieberman Burchard*, FeCl₃ 5%, gelatin 10%, H₂SO₄ pekat, HCl 2N, Folin-ciocalteu, AlCl₃ 10%, natrium asetat 1M, natrium karbonat (100 g/L) dan radikal bebas *2,2-diphenyl-Ipicrylhydrazyl* (DPPH) (Sigma-aldrich). Bahan lain seperti plat silika GF₂₅₄ (Merck).

2.3. Prosedur

2.3.1. Pembuatan serbuk simplisia daun Wijaya Kusuma

Daun Wijaya Kusuma yang telah disortasi basah dan dicuci bersih kemudian dirajang dan dikering-anginkan selama ±6-7 hari. Simplisia daun kemudian disortasi kering. Simplisia diblender dan diayak dengan ayakan no 40. Serbuk simplisia ditimbang dan siap untuk diekstraksi¹⁰.

2.3.2. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun Wijaya Kusuma

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi pada suhu ruang. Sebanyak 1500 g serbuk daun direndam dalam etanol

96% dengan perbandingan 1:10 bagian. Setelah 24 jam, filtrat dipisahkan dengan ampasnya dan diremaserasi kembali sebanyak 5 kali. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C dengan putaran 500 rpm. Pemekatan dilanjutkan pada waterbath pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang bobotnya dan dihitung persentase rendemennya terhadap bobot serbuk daun yang diekstraksi¹⁰.

2.3.3. Pembuatan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol 96% daun Wijaya Kusuma

Ekstrak etanol 96% sebanyak 25 g ditambahkan 15 mL etanol lalu ditambahkan aquades dengan volume akhir adalah 100 mL. Selanjutnya campuran dimasukan ke dalam corong pisah 250 mL dan ditambahkan 100 mL eter, dilakukan penggojogan. Setelah terbentuk 2 lapisan, kedua lapisan ditampung di wadah terpisah. Fase air (lapisan bawah) dimasukan kembali ke dalam corong pisah. Proses fraksinasi diulang sebanyak 5 kali dengan pelarut eter baru. Setelah itu, fraksinasi fase air dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan prosedur yang sama. Fase eter dan etil asetat yang telah diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C dengan putaran 500 rpm. Pemekatan dilanjutkan pada waterbath pada suhu 50°C hingga diperoleh fraksi eter dan fraksi etil asetat kental. Fase air sisanya, dipekatkan langsung di *waterbath* pada suhu 50°C hingga diperoleh fraksi air kental. Masing-masing fraksi kental ditimbang bobotnya dan dihitung persentase rendemennya terhadap bobot ekstrak yang diekstraksi.

2.3.4. Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi kandungan kimia simplisia, ekstrak, dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma mengikuti prosedur yang tertera pada Hanani (2016), meliputi pengujian keberadaan fenolik, flavonoid, tannin, saponin dan steroid. Hasil deteksi ditunjukkan dengan perubahan warna tertentu (uji fenolik,

flavonoid), terbentuknya endapan (uji alkaloid dan tanin) serta buih yang stabil (uji saponin)¹¹.

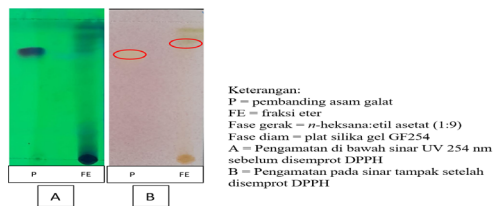
2.3.5. Penentuan kadar fenolik total

Penentuan kadar fenolik dilakukan pada microplate 96-sumuran yang diadaptasi dari Sembiring et al (2018)¹². Masing-masing sebanyak 25 µL larutan uji (larutan ekstrak, fraksi eter, fraksi etil asetat, dan fraksi air) dan pembanding (asam galat) pada konsentrasi tertentu ditambahkan dengan 100 µL Folin-ciocalteu (1:4), goyang dengan pelan selama 60 detik. Biarkan campuran selama 240 detik dalam kondisi terlindung dari cahaya. Selanjutnya, tambahkan 75 µL natrium karbonat (100 g/L), goyang dengan pelan selama 1 menit. Setelah inkubasi selama 2 jam pada suhu kamar, dilakukan pembacaan absorbansi pada 750 nm. Konsentrasi larutan asam galat yang digunakan adalah 62,5; 125; 250; dan 500 ppm. Konsentrasi ekstrak dan fraksi diujikan adalah 10.000 ppm. Kadar fenolik total dinyatakan sebagai mgGAE per g ekstrak atau fraksi.

2.3.6. Penentuan kadar flavonoid total

Penentuan kadar flavonoid dilakukan pada *microplate* 96-sumuran yang diadaptasi dari Sembiring et al (2018)¹². Masing-masing sebanyak 50 µL larutan uji (larutan ekstrak, fraksi eter, fraksi etil asetat, dan fraksi air) dan pembanding (kuersetin) pada konsentrasi tertentu ditambahkan dengan 10 µL AlCl₃ 10%. Campuran ditambahkan 150 µL metanol, 10 µL natrium asetat 1 M, dan selanjutnya diinkubasi dalam kondisi terlindung dari cahaya selama 40 menit pada suhu kamar. Setelah inkubasi selesai, dilakukan pembacaan absorbansi pada 415 nm. Konsentrasi larutan kuersetin yang digunakan adalah 7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; dan 125 ppm. Konsentrasi ekstrak, fraksi etil asetat, dan air yang diujikan adalah 5000 ppm, fraksi eter yaitu 1250 ppm. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai mg ekivalen kuersetin (mgQE) per g ekstrak/fraksi.

2.3.7. Penapisan aktivitas antioksidan fraksi eter menggunakan metode KLT



Gambar 1. Skrining aktivitas antioksidan fraksi eter terhadap radikal DPPH dengan metode KLT

Penapisan aktivitas antioksidan pada fraksi eter dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF₂₅₄. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksana:etil asetat (1:9) dan beberapa tetes asam formiat. Pembeding yang digunakan adalah asam galat. Larutan fraksi (1250 ppm) dan asam galat (10 ppm) ditotolkan pada plat KLT dan dielusikan dalam chamber yang sudah jenuh oleh uap fase gerak. Proses deteksi bercak dilakukan di bawah UV 254 nm dan disemprot menggunakan larutan radikal DPPH. Keberadaan senyawa dengan aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan bercak yang berwarna kuning¹³.

2. Hasil

Hasil rendemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 1. Fraksi air memiliki rendemen paling tinggi (25,36%) terhadap 25 g ekstrak yang difraksinasi. Sedangkan fraksi etil asetat memiliki rendemen yang paling rendah (3,76%) dibanding fraksi lainnya. Hasil skrining fitokimia simplisia, ekstrak dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma dapat dilihat pada Tabel 2. Senyawa fenolik dan flavonoid terkandung di semua sampel. Tanin ditemukan pada simplisia, ekstrak etanol dan fraksi air. Steroid terdapat dalam simplisia, ekstrak etanol dan fraksi eter.

Berdasarkan kurva kalibrasi dari asam galat pada konsentrasi 62,5-500 ppm diperoleh persamaan yaitu $y = 0,002x + 0,1225$ (R^2

Tabel 1. Hasil ekstrak dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma

Sampel	Bobot	Rendemen
Ekstrak etanol 96%	86,30 g	5,75 %
Fraksi eter	5,21 g	20,82 %
Fraksi etil asetat	0,94 g	3,76 %
Fraksi air	6,34 g	25,36 %

= 0,9925), sedangkan kurva kalibrasi dari kuersetin pada konsentrasi 7,8125-125 ppm diperoleh persamaan garis yaitu $y = 0,0056x + 0,1125$ ($R^2 = 0,9964$). Kadar fenolik dan flavonoid tertinggi ditemukan pada fraksi eter dibanding fraksi lainnya (fraksi eter > air > etil asetat). Kadar fenolik dan flavonoid dari masing-masing ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 3. Skrining aktivitas antioksidan hanya dilakukan pada fraksi dengan kandungan fenolik tertinggi, yaitu fraksi eter. Berdasarkan Gambar 1, fraksi eter mengandung senyawa dengan aktivitas peredam radikal DPPH secara kualitatif yang ditunjukkan dengan bercak yang berwarna kuning pada plat KLT. Bercak asam galat sebagai peredam radikal DPPH berada pada nilai R_f 0,75, sedangkan bercak yang muncul pada fraksi eter ada pada nilai R_f 0,85.

3. Pembahasan

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan menggunakan teknik cair-cair berdasarkan polaritas pelarut yang digunakan¹⁴. Proses fraksinasi pada penelitian ini menggunakan pelarut eter (nonpolar), etil asetat (semi polar), dan air (polar). Polaritas eter mirip dengan n-heksana dengan kemampuannya dalam menarik senyawa kurang polar seperti lemak, asam lemak, klorofil, fitosterol dan lainnya. Sedangkan pelarut etil asetat dengan polaritas medium mampu menarik beberapa alkaloid, aglikon,

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia simplisia, ekstrak dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma

Sampel	Kandungan kimia					
	Alkaloid	Fenolik	Flavonoid	Tanin	Saponin	Steroid
Simplisia	-	+	+	+	-	+
Ekstrak etanol 96%	-	+	+	+	-	+
Fraksi eter	-	+	+	-	-	+
Fraksi etil asetat	-	+	+	-	-	-
Fraksi air	-	+	+	+	-	-

Keterangan: (+) = terdeteksi; (-) = tidak terdeteksi

Tabel 3. Kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun Wijaya Kusuma

Sampel	Kadar fenolik total (mgGAE/g)	Kadar flavonoid total (mgQE/g)
Ekstrak etanol 96%	18,383±1,36329	1,198±0,811
Fraksi eter	35,912±0,54776	0,773±0,008
Fraksi etil asetat	8,325±1,01765	0,066±0,036
Fraksi air	16,442±0,27423	0,106±0,007

dan beberapa glikosida dengan sedikit gula. Air memiliki polaritas paling tinggi dengan kemampuannya dalam menarik senyawa sakarida, asam amino, serta glikosida-glikosida dengan banyak gugus gula¹⁴. Berdasarkan penelitian Dandekar et al (2015), ekstrak daun Wijaya Kusuma didominasi oleh senyawa steroid seperti *ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-; 4-Hydroxy-2-methylacetophenone; Megastigmatrienone; Cycloocta-1,3,6-triene, 2,3,5,5,8,8,-hexamethyl; 4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol; 2,5-Dihydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one; n-Hexadecanoic acid; Octadecanoic acid; Phytol; 6-octen-1-ol,3,7-dimethyl; Stigmasterol; Cholesta-22,24-dien-5-ol,4,4-dimethyl; 22-stigmasten-3-one*⁵. Klorofil pada batas tertentu juga dapat terekstraksi dalam etanol dan dapat terpartisi dalam pelarut non polar seperti n-heksana dan eter¹⁴. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan fraksi eter yang merupakan fraksi kurang polar memiliki nilai rendemen cukup tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Hal ini diduga berkaitan dengan kandungan klorofil dan steroid dalam daun Wijaya Kusuma yang banyak tersari dalam eter. Namun, demikian, perlu studi lebih lanjut untuk memastikan hal ini.

Fenolik dan flavonoid ditemukan dengan kadar yang tinggi pada fraksi eter daun Wijaya Kusuma dibandingkan dengan fraksi lainnya (fraksi eter>fraksi air>fraksi etil asetat). Polifenol pada tanaman terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) dan glikosida. Polifenol pada tanaman disintesis dari jalur sikimat¹⁵. Stabilitas polifenol bervariasi karena distribusinya yang tidak seragam pada tumbuhan. Beberapa fenolik merupakan senyawa stabil, sedangkan lainnya lebih rentan terhadap oksidasi maupun suhu. Sifat kelarutan dan pemisahan polifenol dipengaruhi oleh perbedaan struktur

kimianya¹⁶. Berkaitan dengan banyaknya hidroksil pada strukturnya, biasanya polifenol bersifat cenderung polar dan lebih suka larut dalam pelarut dengan polaritas yang lebih tinggi¹⁶ seperti etanol-air¹⁴. Namun, pada studi ini, justru fenolik dan flavonoid dalam fraksi nonpolar berada pada kadar yang tinggi. Nawaz et al (2020) melaporkan bahwa ekstrak yang diperoleh dengan pelarut polar memberikan hasil rendemen yang tinggi dari biji *Phaseolus vulgaris*. Namun demikian, kadar fenolik dan flavonoid total lebih rendah pada ekstrak tersebut dibandingkan dengan ekstrak yang diperoleh dari pelarut nonpolar (heksana dan petroleum eter). Hal ini mengindikasikan bahwa biji tanaman tersebut mengandung senyawa fenolik yang dominan bersifat non-polar¹⁷. Studi literatur membuktikan bahwa tidak ada pelarut yang secara umum dapat diterima sebagai pelarut terbaik untuk ekstraksi dan pemisahan polifenol pada tanaman. Pengaruh besar pada proses deteksi dan kuantifikasi polifenol dalam tanaman sebagai zat terlarut mengacu pada jenis senyawa polifenol didalamnya¹⁶.

Penentuan kadar fenolik menggunakan Folin-ciocalteu memiliki keunggulan dibanding dengan metode lain seperti Folin-Denis, titrasi permanganat, maupun kolorimetri dengan garam besi⁷. Metode ini memiliki sensitivitas dan reproduksibilitas yang baik dan sangat mudah untuk dilakukan¹⁸. Pengujian Folin-ciocalteu bergantung pada transfer elektron dalam medium alkali dari senyawa fenolik untuk membentuk kompleks fosfomolibdat/asam fosfotungstat untuk membentuk kompleks biru ($\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40}^{4-}$) yang serapannya dapat diukur sekitar 760 nm. Alkalinitas akibat reaksi dengan natrium karbonat menyebabkan proses oksidasi fenol menjadi lebih cepat¹⁹. Reaksi ini sangat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan terbentuknya warna biru yang lebih cepat¹⁸. Flavonoid merupakan

turunan dari senyawa fenolik. Senyawa ini memiliki sistem cincin aromatis terkonjugasi yang memiliki serapan pada sinar UV. Pengujian kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi $AlCl_3$ yang dapat diukur pada rentang panjang gelombang 410-423 nm²⁰. Gugus hidroksil pada C nomor 3 atau 5 serta keto pada C nomor 4 bereaksi dengan pereaksi ini untuk membentuk kompleks warna kuning cerah yang stabil dalam suasana asam¹¹. Meskipun metode pengujian kadar polifenol dengan *microplate* ini cepat, hemat biaya karena penggunaan pelarut dan pereaksi yang minimal serta hasil yang akurat, namun penting untuk diperhatikan bahwa ada kemungkinan terbentuk gelembung maupun presipitasi selama seluruh pengujian yang menyebabkan pengukuran menjadi tidak stabil⁸. Selain itu, penggunaan sampel dengan jumlah yang sangat sedikit harus ditangani dengan segera selama proses pengujian untuk menghindari penguapan pelarut yang tinggi di dalam tiap sumuran yang dapat menyebabkan kendala dalam proses pembacaan absorbansi (serapan).

Peredaman radikal DPPH oleh senyawa antioksidan pada plat KLT dapat terdeteksi dengan munculnya bercak berwarna kuning yang stabil selama 30 menit setelah dilakukan penyempotan²¹. Hasil menunjukkan keberadaan senyawa yang mampu meredam radikal DPPH pada fraksi eter. Namun, diduga jenis fenoliknya bukanlah suatu asam galat karena bercak kuning yang muncul tidak sejajar dengan bercak asam galat ($R_f = 0,75$). Aktivitas antioksidan pada sampel dapat diperankan oleh fenolik, flavonoid⁷ atau bahkan senyawa steroid²². Meskipun kandungan fenolik dan flavonoid tinggi pada ekstrak dalam pelarut nonpolar, ternyata aktivitas antioksidannya belum tentu lebih baik dibanding ekstrak dalam pelarut polar. Sebagian besar aktivitas antioksidan yang tinggi ditunjukkan pada ekstrak atau fraksi yang diperoleh dari pelarut polar seperti etanol maupun metanol¹⁷. Dengan demikian, pengujian antioksidan secara kuantitatif lebih lanjut dan penelusuran senyawa yang berperan terhadapnya pada fraksi daun Wijaya Kusuma masih perlu dilakukan. Penelitian

yang dilakukan Artini dan Aryasa dinyatakan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak bunga wijaya kusuma pada lapisan petroleum eter adalah alkaloid, triterpenoid, dan saponin sehingga hal ini menguatkan kebaruan dari penelitian ini bahwa kandungan flavonoid yang sebelum belum ditetapkan dalam daun Wijaya Kusuma memiliki peran dalam aktivitas antioksidan²³.

4. Kesimpulan

Fraksi eter daun Wijaya Kusuma mengandung kadar fenolik dan flavonoid tertinggi dibandingkan fraksi lainnya (fraksi eter > fraksi air > fraksi etil asetat). Kandungan senyawa pada fraksi eter memiliki aktivitas peredaman terhadap radikal DPPH yang ditapis menggunakan metode KLT.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan UHAMKA yang telah mendukung penelitian pada *batch* 1 tahun 2020, dengan nomor: 159/F.03.07/2021.

Daftar Pustaka

1. Dandekar R, Fegade B, Naik A. *Evaluation of Anti Inflammatory Activity of Alcohol and Aqueous Extract of Epiphyllum oxypetalum Leaves*. *World J Pharm Pharm Sci*. 2015;4(07):851–8.
2. Dwita LP, Hasanah F, Srirustami R, Repi, Purnomo R, Harsodjo S. *Wound healing properties of Epiphyllum oxypetalum (DC.) Haw. leaf extract in streptozotocin-induced diabetic mice by topical application*. *Wound Med*. 2019;26(1):1–5.
3. Dandekar R, Fegade B, Bhaskar VH. *In vitro evaluation of free radical scavenging activities of Epiphyllum oxypetalum*. *World J Pharm Res*. 2015;4(07):1301–9.
4. Devi KRS, Narayana SL, Menghani P, Georgekutty J. *Microscopic, pharmacognostic and phytochemical screening of Epiphyllum oxypetalum (DC) haw leaves*. *J Pharmacogn Phytochem*. 2018;7(6):972–80.
5. Dandekar R, Fegade B, Bhaskar VH.

- GC-MS analysis of phytoconstituents in alcohol extract of Epiphyllum oxypetalum leaves. J Pharmacogn Phytochem.* 2015;4(1):149–54.
6. Moharram HA, Youssef MM. *Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. Alexandria J Food Sci Technol.* 2014;11(1):31–42.
 7. Dai J, Mumper RJ. *Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules.* 2010;15:7313–52.
 8. Bobo-García G, Davidov-Pardo G, Arroqui C, Vírveda P, Marín-Arroyo MR, Navarro M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *J Sci Food Agric.* 2015;95(1):204–9.
 9. Herald TJ, Gadgil P, Perumal R, Bean SR, Wilson JD. *High-throughput micro-plate HCl-vanillin assay for screening tannin content in sorghum grain. J Sci Food Agric.* 2014;94(10):2133–6.
 10. Kementerian Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia (FHI).* 2nd ed. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2008.
 11. Hanani E. *Analisis Fitokimia.* Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2015. 34–45 p.
 12. Sembiring EN, Elya B, Sauriasari R. *Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of Caesalpinia bonduc (L.) Roxb. Pharmacogn J.* 2018;10(1):123–7.
 13. Irianti T, Murti YB, Kanistri DN, Pratiwi DR, Kuswandi, Kusumaningtyas RA. *DPPH Radical Scavenging Activity of Aqueous Fraction from Ethanolic Extract of Talok Fruit (Muntingia calabura L.). Tradit Med J.* 2016;21(1):38–47.
 14. Houghton PJ, Raman A. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. 1st ed. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Springer-Science+Business Media, B.V.;* 1998. 14–16, 24–31, 39–52 p.
 15. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouysøgu L. *Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. Angew Chemie Int Ed.* 2011;50(3):586–621.
 16. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. *Extraction of phenolic compounds: A review. Curr Res Food Sci.* 2021;4(March):200–14.
 17. Nawaz H, Shad MA, Rehman N, Andaleeb H, Ullah N. *Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (Phaseolus vulgaris) seeds. Brazilian J Pharm Sci.* 2020;56:e17129.
 18. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In: Methods in Enzymology. Elsevier Inc.;* 1999. p. 152–78.
 19. Cicco N, Lanorte MT, Paraggio M, Viggiano M, Lattanzio V. *A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. Microchem J.* 2009;91(1):107–10.
 20. Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH, Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. *Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules.* 2013;18(2):2328–75.
 21. Sethiya NK, Raja MKMM, Mishra SH. *Antioxidant markers based TLC-DPPH differentiation on four commercialized botanical sources of Shankhpushpi (A Medhya Rasayana): A preliminary assessment. J Adv Pharm Technol Res.* 2013;4(1):25–30.
 22. Mooradian AD. *Antioxidant properties of steroids. J Steroid Biochem Mol Biol.* 1993;45(6):509–11.
 23. Artini NPR, Aryasa IWT. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Wijaya Kusuma (Epiphyllum oxypetalum). J Ilm Medicam.* 2018;4(2):2356–4818.