

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan Metode ABTS

Dwi Endah Kusumawati*, Hasna Labibah Nurningtyas

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Kota Semarang, Indonesia

*dwierendahkusumawati@unissula.ac.id

Diterima: 02 Agustus 2025 | Disetujui: 28 Januari 2026

ABSTRAK

Diperlukan sumber antioksidan alami yang aman untuk menangkal radikal bebas. Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) diketahui mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan, namun tingkat aktivitasnya dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan metode pengujian yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun beluntas menggunakan metode ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). Penelitian dilakukan secara eksperimental *in vitro*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun beluntas mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik, saponin, dan tanin. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% daun beluntas sebesar 59,75 ppm yang diperoleh melalui pendekatan regresi linier, sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar 6,27 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol 70% daun beluntas, yang diperkuat oleh perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Meskipun persentase penghambatan radikal bebas ekstrak belum mencapai 50% pada rentang konsentrasi uji, ekstrak etanol 70% daun beluntas tetap menunjukkan aktivitas antioksidan, sehingga berpotensi untuk dikaji lebih lanjut dengan penggunaan rentang konsentrasi yang lebih luas.

Kata Kunci: ABTS, daun beluntas, IC_{50} , vitamin C

Antioxidant Activity Test of 70% Ethanol Extract of Beluntas Leaves (*Pluchea indica* L.) Using the ABTS Method

ABSTRACT

Natural antioxidant sources are needed to counteract free radicals. Beluntas leaves (*Pluchea indica* L.) are known to contain phenolic and flavonoid compounds with antioxidant potential; however, their activity levels are influenced by the extraction and testing methods employed. This study aims to analyze the antioxidant activity of beluntas leaf ethanolic extract using the ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) method. The research was conducted as an experimental *in vitro* study. Phytochemical screening results showed that the 70% ethanolic extract of beluntas leaves contains flavonoids, alkaloids, phenolic compounds, saponins, and tannins. The antioxidant activity test revealed an IC_{50} value of 59.75 ppm for the 70% ethanolic extract, obtained through linear regression analysis, while vitamin C as a positive control showed

an IC_{50} of 6.27 ppm. These results indicate that the antioxidant activity of vitamin C is stronger than the 70% ethanolic extract of beluntas leaves, supported by a statistically significant difference ($p < 0.05$). Although the percentage of radical scavenging activity of the extract did not reach 50% within the tested concentration range, the 70% ethanolic extract of beluntas leaves still demonstrates antioxidant activity, suggesting its potential for further investigation using a broader range of concentrations.

Keywords: ABTS, beluntas leaves, IC_{50} , vitamin C

PENDAHULUAN

Beragam penyakit degeneratif yang banyak dijumpai di Indonesia memiliki hubungan erat dengan paparan radikal bebas di lingkungan sekitar (Hardiany *et al.*, 2024; Maharan *et al.*, 2025). Radikal bebas ini dapat berasal dari berbagai faktor, seperti asap rokok, pencemaran udara, konsumsi alkohol berlebihan, paparan sinar ultraviolet, bahan kimia tertentu, serta kebiasaan konsumsi makanan yang kurang sehat, termasuk makanan olahan dan gorengan (Amnestiya *et al.*, 2023; Billa *et al.*, 2023; Shaliha *et al.*, 2025). Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil, destruktif, dan sangat reaktif karena hanya mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga mudah bereaksi dengan molekul lain di sekitarnya seperti lipid, DNA, dan protein (Lestari & Wijayati, 2025; Rizqiana & Sudarmin, 2023). Radikal bebas berkontribusi terhadap berbagai gangguan kesehatan, termasuk peningkatan risiko aterosklerosis serta kerusakan DNA inti sel, protein, dan lipid melalui mekanisme peroksidasi lipid (Fadillah & Lestari, 2023; Irianti *et al.*, 2017). Akumulasi radikal bebas dalam tubuh juga berhubungan dengan meningkatnya risiko terjadinya kanker (Nurkhasanah *et al.*, 2023). Di sisi lain, radikal bebas memiliki peran fisiologis, khususnya senyawa oksigen reaktif yang terlibat dalam mekanisme pertahanan tubuh, aktivitas bakterisidal dan bakteriolisis, serta mendukung fungsi spermatozoa dalam fertilisasi, aktivitas mitogenik sel, dan sintesis DNA (Irianti *et al.*, 2017).

Berbagai jenis antioksidan sintetis tersedia di pasaran dan sering digunakan dalam industri pangan, kosmetik, serta produk olahan untuk mencegah oksidasi dan memperpanjang umur simpan. Regulasi penggunaan dan jumlah senyawa ini berbeda-beda di setiap negara karena potensi efek kesehatan jika dikonsumsi secara berlebihan. Penggunaan antioksidan sintetis dalam jangka panjang diketahui berpotensi menimbulkan efek samping, sehingga diperlukan sumber antioksidan alami yang lebih aman (Mika *et al.*, 2023; Nusaibah *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2024). Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) merupakan salah satu sumber antioksidan alami yang mudah ditemukan di berbagai wilayah Indonesia, dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat selain sebagai bumbu masakan di dapur. Daun beluntas secara empiris telah digunakan sebagai tanaman obat dan dilaporkan mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, dan tanin, yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan (Imanda *et al.*, 2024; Isromarina *et al.*, 2025; Sari *et al.*, 2025).

Etanol 70% dipilih sebagai pelarut ekstraksi karena sifat semi-polarnya membuatnya mampu melarutkan dan memisahkan senyawa fenolik serta flavonoid lebih efisien dibandingkan pelarut yang terlalu polar atau non-polar. Namun, aktivitas antioksidan ekstrak tidak hanya bergantung pada kandungan senyawa bioaktif tersebut, melainkan juga sangat dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan (Lohvina *et al.*, 2021; Luhurningtyas & Surya, 2022; Rahardhian *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian khusus terhadap ekstrak etanol 70% untuk memastikan potensi antioksidannya dan menentukan kondisi ekstraksi yang paling tepat.

Aktivitas antioksidan dapat dianalisis melalui berbagai metode pengujian, seperti DPPH, FRAP, dan ABTS, yang masing-masing bekerja berdasarkan prinsip dan mekanisme reaksi yang berbeda dalam menilai kemampuan senyawa antioksidan meredam radikal bebas (Kurniasari *et al.*, 2023; Putri *et al.*, 2024; Theafelicia & Wulan, 2023). Di antara metode tersebut, ABTS dianggap lebih menyeluruh karena mampu mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik, sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai potensi antioksidan suatu ekstrak atau senyawa yang diuji (Hartono *et al.*, 2025; Zahra *et al.*, 2025).

Ringkasan dari seluruh permasalahan ini mendorong untuk dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan pada daun beluntas dengan tujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) menggunakan metode ABTS (2,2-azinobis-(3-

etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). Melalui riset ini diharapkan berkontribusi dalam melengkapi data ilmiah mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang masih terbatas, khususnya melalui pengujian dengan metode ABTS.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan selama 2 bulan dengan lokasi penelitian di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Terboyo Kulon, Kecamatan Genuk, Kota Semarang, Jawa Tengah. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium menggunakan rancangan studi eksperimental *in-vitro*.

Cara kerja penelitian ini dimulai dengan identifikasi tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) berdasarkan ciri morfologinya untuk memastikan spesies yang dimaksud secara ilmiah. Pembuatan simplisia dilakukan dengan memanen daun beluntas muda berusia 2–3 minggu, dipetik antara pukul 09.00–10.00 diharapkan diperoleh kandungan metabolit sekunder secara optimal. Daun disortir, dicuci, dirajang, dan dikeringkan menggunakan lemari pengering hingga kadar air kurang dari 10%. Setelah itu, simplisia dihaluskan dan diayak menggunakan Mesh No. 40. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% pada perbandingan bahan dan pelarut 1:10 selama 3 × 24 jam. Selanjutnya, filtrat yang dihasilkan dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Berikut rumus perhitungan untuk ekstraksi:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat kental ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

Identifikasi kandungan metabolit sekunder meliputi flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik, saponin, dan tanin dilakukan melalui skrining fitokimia menggunakan uji tabung dengan pereaksi khusus, yang ditandai oleh terjadinya perubahan warna atau pembentukan endapan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanol daun beluntas, dengan vitamin C digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) pada rentang konsentrasi 10–50 ppm. Penentuan aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan sampel dalam menghambat radikal bebas menggunakan metode ABTS. Radikal kation ABTS disiapkan dengan mencampurkan larutan ABTS dan kalium persulfat, kemudian diinkubasi selama 12 jam. Selanjutnya, panjang gelombang maksimum serta waktu operasional ditetapkan menggunakan spektrofotometer UV–Vis. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencampurkan larutan ekstrak atau vitamin C dengan larutan ABTS dan etanol, kemudian nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Berikut rumus perhitungan untuk inhibisi:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs Blanko} - \text{abs Sampel}}{\text{abs Blanko}} \times 100\% \quad (2)$$

Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linear antara konsentrasi dan persentase inhibisi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai untuk menarik metabolit sekunder dari jaringan tanaman (Wahyuningsih *et al.*, 2024). Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol dipilih karena kemampuannya menembus dinding sel tanaman sehingga memungkinkan difusi senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut. Konsentrasi etanol 70% dipilih karena tingkat kepolarannya yang sesuai untuk melarutkan senyawa polar, seperti flavonoid, secara efektif, dimana flavonoid dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Metode maserasi dipilih karena

termasuk teknik yang sederhana, baik dari segi peralatan maupun prosedur pelaksanaannya. Selain itu, metode ini bersifat non-termal sehingga sangat cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa termolabil yang rentan mengalami kerusakan jika terpapar suhu tinggi. Penggunaan maserasi dengan pelarut etanol 70% dinilai tepat untuk menjaga stabilitas dan efektivitas senyawa aktif yang diinginkan (Pratikto *et al.*, 2024). Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk menghitung persentase rendemen, yaitu perbandingan antara jumlah ekstrak yang diperoleh dengan bobot awal simplisia kering yang digunakan sebagai bahan dasar. Pengukuran ini penting untuk mengetahui seberapa besar konsentrat yang berhasil diambil dari bahan alami, yang mencerminkan kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak tersebut (Senduk *et al.*, 2020).

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dan data hasil persentase rendemen serta kadar air terdapat pada Tabel 1 persentase rendemen yang diperoleh pada penelitian ini yaitu sebesar 21%, yang menunjukkan hasil tersebut memenuhi kriteria kualitas ekstrak.

Tabel 1. Data persentase rendemen dan kadar air ekstrak etanol daun beluntas

Parameter	Ekstrak Etanol 70% Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.) (%)
Kadar Air Ekstrak	4,73
% Rendemen	21

Hasil perolehan persentase rendemen ini lebih bagus apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Purwani, Sari, Ramadhan, *et al.* (2024), karena dari ekstrak etanol 70% daun beluntas diperoleh nilai persentase rendemen sebesar 16,35% di bawah 4,65% dari hasil penelitian saat ini. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai rendemen memenuhi standar mutu ekstrak, karena rendemen dianggap memadai apabila persentasenya lebih dari 10% (Saerang *et al.*, 2023).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan menggunakan analisis kualitatif dengan metode tabung pada senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, dan tanin. Analisis dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna pada ekstrak. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun beluntas terdapat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

Identifikasi Senyawa	Gambar	Parameter Uji Positif	Keterangan
Flavonoid		Berwarna kuning, jingga, merah	Positif
Alkaloid		Endapan berwarna jingga	Positif
Fenolik		Berwarna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam	Positif

Identifikasi Senyawa	Gambar	Parameter Uji Positif	Keterangan
Saponin		Berbusa	Positif
Tanin		Berwarna hijau kehitaman	Positif

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun beluntas menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, dan tanin. Uji identifikasi flavonoid terhadap ekstrak etanol daun beluntas ditunjukkan oleh adanya reaksi perubahan warna menjadi warna jingga. Terjadinya perubahan warna pada uji flavonoid disebabkan oleh adanya penambahan serbuk magnesium dan reagen HCl pekat ke dalam ekstrak. Reaksi positif ditunjukkan oleh perubahan warna ekstrak menjadi merah, *orange* atau jingga yang menandakan terbentuknya kompleks flavilium akibat reaksi reduksi flavonoid oleh magnesium dalam suasana asam. Hal ini serupa dengan hasil riset yang dilakukan oleh Fitria *et al.* (2025) pada daun beluntas juga tetapi sampel berasal dari daerah yang berbeda.

Uji identifikasi alkaloid pada ekstrak etanol daun beluntas diperoleh hasil reaksi berupa endapan berwarna jingga. Adanya endapan pada sampel disebabkan oleh penambahan pereaksi *Dragendorff* sehingga menghasilkan endapan berwarna jingga hingga merah kecokelatan. Keberadaan endapan pada sampel ada kemiripan dengan analisis serupa yang dilakukan oleh Purwani, Sari, Pertiwi, *et al.* (2024) pada daun beluntas tetapi menggunakan metode pengujian yang berbeda yaitu DPPH.

Uji identifikasi fenolik pada ekstrak etanol daun beluntas didapatkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna terjadi disebabkan adanya reaksi dengan larutan ferri klorida (FeCl_3) 1% membentuk kompleks berwarna khas seperti hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat. Perubahan warna menjadi hijau kehitaman tersebut sama dengan hasil identifikasi fenolik oleh SusyLOWATI *et al.* (2022) pada daun beluntas juga tetapi berbeda metode maupun asal daerah sampel yang digunakan.

Uji identifikasi saponin pada ekstrak etanol daun beluntas ditandai dengan terbentuknya busa setelah dilakukan pengocokan. Saponin merupakan senyawa amfipatik yang memiliki kemampuan sebagai agen aktif permukaan. Hal ini disebabkan oleh struktur kimianya yang unik, yaitu terdiri dari gugus glikosil yang bersifat polar dan gugus steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar. Alasan serupa untuk hasil uji identifikasi saponin ini, juga diungkapkan oleh Purwani, Sari, Pertiwi, *et al.* (2024) dari hasil risetnya pada daun beluntas, dengan metode yang berbeda namun menggunakan kontrol yang sama.

Uji identifikasi tanin pada ekstrak etanol daun beluntas ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi biru kehitaman. Perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh adanya penambahan FeCl_3 yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang terdapat dalam senyawa tanin. Penambahan FeCl_3 yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Pada penelitian ini hasil positif adanya senyawa tanin dalam sampel ditandai dengan perubahan warna yang dihasilkan berupa hijau kehitaman. Perubahan warna pada hasil uji identifikasi tanin menjadi hijau kehitaman mirip dengan hasil uji yang sama oleh Manongko *et al.* (2020) pada tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan metode pengujian yang berbeda pula.

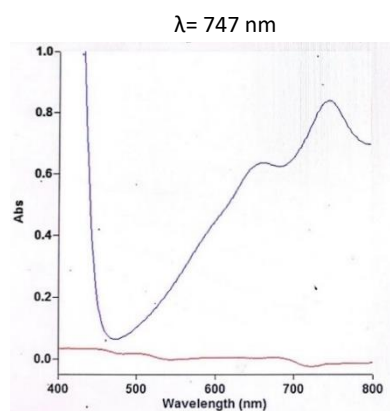
Secara keseluruhan dapat disampaikan bahwa berdasarkan hasil skrining fitokimia, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik, saponin, dan tanin. Temuan ini sejalan dengan penelitian Purwani, Sari, Ramadhan, *et al.* (2024), yang melaporkan bahwa ekstrak etanol 70% daun beluntas mengandung flavonoid,

alkaloid, senyawa fenolik, saponin, dan tanin. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi sebagai sumber bahan obat alami, khususnya sebagai sumber antioksidan (Isromarina *et al.*, 2025).

Uji Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas dengan Metode ABTS

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Aktivitas penghambatan radikal bebas pada penelitian ini diukur menggunakan metode ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Keberadaan radikal ABTS diukur dengan bantuan spektrofotometri UV-Vis, dan diperoleh panjang gelombang maksimum absorbansi sebesar 747 nm. Hasil ini sejalan dengan temuan yang dilaporkan oleh Riyani *et al.* (2022), yang mencatat panjang gelombang maksimum ABTS sebesar 740 nm. Metode ABTS dipilih dalam analisis aktivitas antioksidan karena memiliki sensitivitas yang tinggi dan dapat digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan baik senyawa hidrofilik maupun lipofilik (Anwar *et al.*, 2022). Hasil dari penentuan panjang gelombang maksimum ABTS terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil panjang gelombang maksimum ABTS pada 400–800 nm

Penentuan Operating Time

Operating time dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum ABTS. Penentuan *operating time* ini bertujuan untuk mengetahui waktu optimal saat radikal ABTS mencapai kestabilan setelah proses aktivasi, sehingga hasil pengukuran aktivitas antioksidan dapat lebih akurat dan konsisten (Putri & Mahfur, 2023). Waktu pengukuran apabila dilakukan sebelum kestabilan tercapai, maka hasilnya dapat bervariasi dan tidak merepresentasikan kapasitas antioksidan yang sesungguhnya. Berdasarkan pengamatan kinetika perubahan absorbansi larutan ABTS, pada penelitian ini diperoleh *operating time* optimal selama 25 menit. Radikal ABTS telah mencapai kestabilan maksimum dalam waktu tersebut, sehingga larutan siap digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan (Wahyuningtyas *et al.*, 2025).

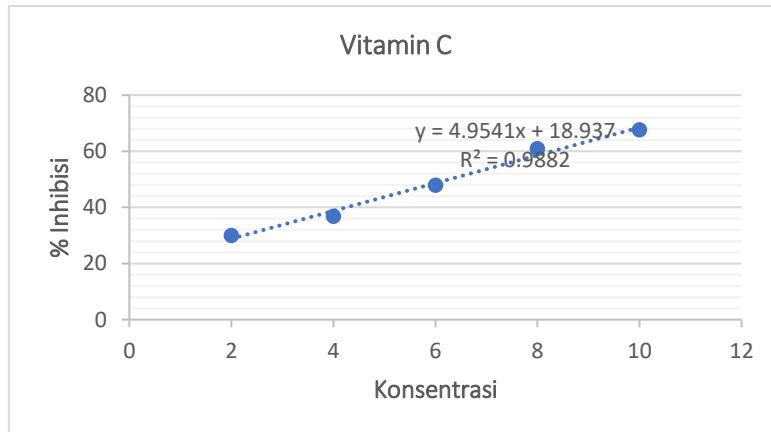
Hasil Uji Penghambatan Radikal Bebas

Uji penghambatan radikal bebas dari ekstrak etanol 70% daun beluntas ditentukan oleh nilai IC_{50} dengan kontrol positif berupa vitamin C. Hasil uji penghambatan radikal bebas tersebut terdapat pada Tabel 3 dan Tabel 4 berikut.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm) (x)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (y)	IC ₅₀
Vitamin C	2	0.533	30.052	6.27
	4	0.481	36.876	
	6	0.397	47.900	
	8	0.298	60.892	
	10	0.247	67.585	

Kontrol ABTS: 0,762

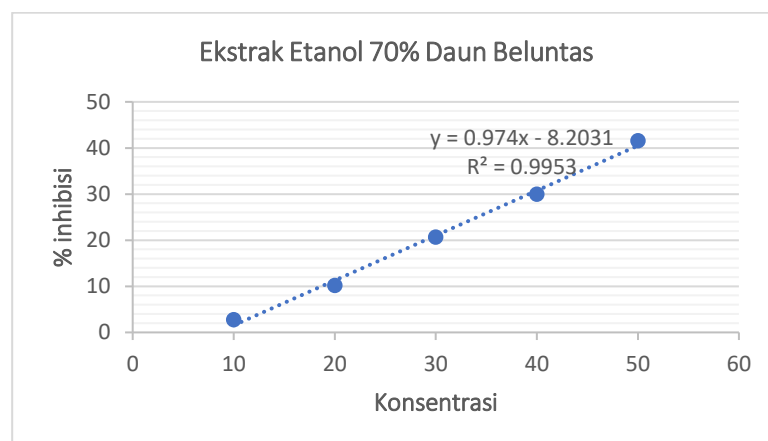


Gambar 2. Grafik hubungan antara persentase inhibisi vitamin C dengan metode ABTS

Tabel 4. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% daun beluntas (*Pluchea indica* L.)

Sampel	Konsentrasi (ppm) (x)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (y)	IC ₅₀
Ekstrak	10	0.747	2.734	59.75
Etanol 70%	20	0.690	10.156	
Daun	30	0.609	20.703	
Beluntas	40	0.538	29.947	
	50	0.449	41.536	

Kontrol ABTS: 0,768



Gambar 3. Grafik hubungan antara persentase inhibisi ekstrak etanol daun beluntas dengan metode ABTS

Berdasarkan hasil pengujian vitamin C menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 6,27 ppm. Nilai vitamin C ini termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat, karena berada jauh di bawah batas <50 ppm sesuai dengan acuan kekuatan antioksidan (Purwani, Sari, Ramadhan, *et al.*, 2024). Pada ekstrak

etanol 70% daun beluntas menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 59,75 ppm berdasarkan perhitungan regresi linier. Meskipun nilai ini diperoleh melalui ekstrapolasi karena persentase inhibisi pada rentang konsentrasi uji belum mencapai 50%, hasil tersebut secara matematis menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (berada pada rentang 50-100 ppm), namun diperlukan pengujian lanjutan dengan rentang konsentrasi yang lebih tinggi agar nilai IC_{50} dapat ditentukan secara langsung dan lebih representatif terhadap kemampuan aktual ekstrak dalam menghambat radikal bebas.

Analisis Data

Hasil yang diperoleh dari uji aktivitas penghambatan radikal bebas kadar vitamin C dan ekstrak etanol 70% daun beluntas diuji normalitas menggunakan Uji Shapiro-Wilk (Tabel 5). Perbedaan aktivitas anti radikal bebas antara vitamin C dan ekstrak etanol 70% daun beluntas diperoleh data terdistribusi normal sehingga diuji dengan independent *T-Test* (Tabel 6). Pengujian aktivitas antioksidan vitamin C yang dilakukan pada penelitian ini memiliki nilai IC_{50} 6,27 ppm, menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan ekstrak etanol 70% daun beluntas yang memiliki nilai IC_{50} 59,75 ppm.

Dari keseluruhan analisis data tersebut dapat disampaikan bahwa data uji aktivitas penghambatan radikal bebas dari vitamin C dan ekstrak etanol 70% daun beluntas terdistribusi normal sehingga dianalisis menggunakan independent *T-test*. Hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kedua sampel. Nilai IC_{50} vitamin C sebesar 6,27 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol 70% daun beluntas dengan IC_{50} 59,75 ppm, meskipun demikian ekstrak beluntas tetap menunjukkan kemampuan penghambatan radikal bebas.

Tabel 5. Uji normalitas aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak etanol 70% daun beluntas

Sampel	Uji Normalitas
Vitamin C	*0,924
Ekstrak Etanol 70% Daun Beluntas	*0,123

Keterangan: *Data normal secara statistik ($p > 0,05$)

Tabel 6. Uji Independent T-test aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak etanol 70% daun beluntas

Data Yang Dianalisis	Uji Independent <i>T-test</i>
Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak	**0,000
Etanol 70% Daun Beluntas	

Keterangan: Data berbeda signifikan secara statistik ($p < 0,05$).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol 70% daun beluntas mengandung senyawa bioaktif berupa flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, dan tanin yang berpotensi berperan sebagai antioksidan. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak berada di atas konsentrasi tertinggi yang diuji dan diperoleh melalui pendekatan matematis menggunakan regresi linier, meskipun persentase penghambatan radikal bebas pada rentang konsentrasi uji belum mencapai 50%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak belum teramati secara optimal pada konsentrasi yang digunakan, namun tetap menunjukkan kemampuan dalam menghambat radikal bebas. Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 6,27 ppm. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan rentang konsentrasi yang lebih tinggi serta melakukan elusidasi struktur untuk mengidentifikasi senyawa aktif antioksidan dalam daun beluntas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Terboyo Kulon, Kecamatan Genuk, Kota Semarang, Jawa Tengah atas dukungan fasilitas dan bantuan teknis pengujian maupun pengambilan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Amnestiya, P., Putra, A. Y., & Sari, Y. (2023). Identifikasi senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan pada limbah kulit buah. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 20(2), 98–104. <https://doi.org/10.30872/jkm.v20i2.1129>
- 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>
- Billa, Z., Fitriyati, L., & Kiromah, N. Z. W. (2023). Uji aktivitas antioksidan kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita* sp) menggunakan metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Usadha Journal of Pharmacy*, 2(4), 507–516. <https://doi.org/10.23917/ujp.v2i4.168>
- Fadillah, A. R., & Lestari, K. (2023). Review: Peran antioksidan dalam imunitas tubuh. *Farmaka*, 21(2), 171–178.
- Fitria, F., Arifah, F. N., Lukis, P. A., & Sari, S. D. M. (2025). Flavonoid levels in beluntas leaves (*Pluchea indica* (L.) Less) in Lamongan Regency using a spectrophotometer UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Sains*, 25(1), 61–69. <https://doi.org/10.35799/jis.v25i1.56217>
- Hardiany, N. S., Amani, D. Q., Anjani, J. V., Natalia, P. C., & Tarigan, R. T. (2024). Oxidative stress and antioxidant status among the elderly in Jakarta. *Acta Biochimica Indonesiana*, 7(2), 177. <https://doi.org/10.32889/actabioina.177>
- Hartono, D. A., Hendrawan, S., & Ferdinal, F. (2025). Uji profil fitokimia, kapasitas antioksidan, dan toksisitas ekstrak metanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.). *EduNaturalia: Jurnal Biologi dan Kependidikan Biologi*, 6(2), 211–224. <https://doi.org/10.26418/edunaturalia.v6i2.98715>
- Imanda, A., Rahayu, P. D., Suprihatin, S., & Sani, S. (2024). Extraction flavonoids of beluntas leaves (*Pluchea indica* L.) using maceration method with fermentation. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 13(2), 121–126.
- Irianti, T., Sugiyanto, S., Nuranto, S., & Kuswandi, K. (2017). *Antioksidan*. UGM Press.
- Isromarina, R., Martha, S., & Oktarina, T. (2025). Penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal Penelitian Sains*, 27(1), 1–5. <https://doi.org/10.56064/jps.v27i1.1063>
- Kurniasari, Y., Khasanah, K., Yunita, V., Alawiyah, L., & Wijayanti, P. (2023). Aktivitas antioksidan ekstrak serbuk bekatul menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 82–90. <https://doi.org/10.61902/cerata.v13i2.612>
- Lestari, H. S., & Wijayati, N. (2025). Activity of antioxidant compounds in different varieties of mango leaves. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 14(3), 34–49. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v14i3.22734>
- Lohvina, H., Sándor, M., & Wink, M. (2021). Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*, 14(1), 7. <https://doi.org/10.3390/d14010007>
- Luhurningtyas, F. P., & Surya, R. P. A. (2022). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak 70% dan 96% buah parioto asal bandungan menggunakan metode FRAP dan profil kromatografinya. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 3(1), 39–44. <https://doi.org/10.15408/pbsj.v3i1.22752>
- Maharan, A. D., Amin, S., Fauzan, N. N., & Sopiyan, N. (2025). Peran senyawa bioaktif tumbuhan untuk penyakit degeneratif: Tinjauan kimia medisinal. *Jurnal Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan*, 4(2), 187–197. <https://doi.org/10.55606/klinik.v4i2.3959>

- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2), 64–69. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725>
- Mika, M., Antończyk, A., & Wikiera, A. (2023). Influence of synthetic antioxidants used in food technology on the bioavailability and metabolism of lipids – in vitro studies. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(1), 95–107. <https://doi.org/10.31883/pjfn/161366>
- Nurkhasanah, N., Bachri, M. S., & Yuliani, S. (2023). *Antioksidan dan Stres Oksidatif* (G. A. Sabila, Ed.; Cetakan Pertama). UAD PRESS.
- Nusaibah, N., Cempaka, C. I., Abrian, S., Susanti, O., & Andayani, T. R. (2023). Karakteristik face scrub dari sediaan simplisia rumput laut *Sargassum* sp. *Majalah Farmasetika*, 9(1), 76–90. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v9i1.49265>
- Pratikto, A. P., Yamlean, P. V. Y., & Siampa, J. P. (2024). Formulasi dan evaluasi krim ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai tabir surya. *PHARMACON*, 13(1), 483–495.
- Purwani, A. I. H., Sari, F., Pertiwi, K. K., & Lestari, T. P. (2024). Skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *JPB: Jurnal Pharma Bhakta*, 4(1), 8–14.
- Purwani, A. I. H., Sari, F., Ramadhan, M. D., & Mawardika, H. (2024). Aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) etanol 70% dan etil asetat menggunakan DPPH. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 10(1), 21–27. <https://doi.org/10.51352/jim.v10i1.740>
- Putri, I. A., & Mahfur, M. (2023). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% batang nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan metode DPPH. *IJPSCR: Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research*, 1(2), 1–16.
- Putri, N. S., Limanan, D., Yulianti, E., & Ferdinal, F. (2024). Perbandingan uji kapasitas total antioksidan ekstrak daun kelor dengan metode DPPH, FRAP, dan ABTS. *JUSINDO*, 6(2), 869–877.
- Rahardhian, M. R. R., Murti, B. T., Wigati, D., Suharsanti, R., & Putri, C. N. (2019). Solvent concentration effect on total flavonoid and total phenolic contents of *Averrhoa bilimbi* leaf extract. *Pharmaciana*, 9(1), 137–144.
- Riyani, N., Raharjo, D., Ayu, D., & Permatasari, I. (2022). Kadar flavonoid dan antioksidan ekstrak etanol dan fraksi batang beluntas (*Pluchea indica* Less.) metode ABTS*. *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal Kesehatan*, 9(2).
- Rizqiana, A., & Sudarmin, S. (2023). Analysis of antioxidant activity on the ethanol extract of Indonesian tropical forest plants. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(1), 47–57.
- Saerang, M. F., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2023). Formulasi sediaan krim dengan ekstrak etanol daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*. *PHARMACON*, 12(3), 350–357. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49075>
- Sari, F., Imulda, A., Nurhayati, R., & Pertiwi, K. K. (2025). Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) berdasarkan perbedaan pelarut ekstraksi menggunakan metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research (IJPSCR)*, 3(1), 1–8.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Shaliha, I., Anjani, D. R., & Fauzi, F. M. (2025). Pembuatan sediaan masker gel peel-off beras hitam (*Oryza sativa* L.) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. *Journal of Pharmacy and Nutrition Research*, 1(01), 26–42. <https://doi.org/10.64689/jopanur.v1i01.6>
- Shi, J., Xu, J., Liu, X., Goda, A. A., Salem, S. H., Deabes, M. M., Ibrahim, M. I. M., Naguib, K., & Mohamed, S. R. (2024). Evaluation of some artificial food preservatives and natural plant extracts as antimicrobial agents for safety. *Discover Food*, 4(1), 89. <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00162-z>
- Susylowati, D., Takarina, N. D., Yasman, Y., Pratama, I., & Rijal, M. A. (2022). Karakteristik biologi dan kandungan antioksidan daun beluntas yang hidup di lahan Wanamina Blanakan, Subang-Jawa Barat. *Sainteks*, 19(1), 97–107. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v19i1.13321>

- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. (2023). Perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35–44. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2023.024.01.4>
- Wahyuningsih, S., Yunita, I., Sundari, U. Y., Pagalla, D. B., Kalalinggi, S. Y., Alpian, A., Nurmalasari, E., Suryandani, H., Ramlah, R., & Nasrullah, M. (2024). *Ekstraksi bahan alam* (U. Y. Sundari, Ed.). CV. Gita Lentera Redaksi.
- Wahyuningtyas, F., Arifin, I., & Anwar, K. (2025). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) serta penentuan kadar fenolik dan flavonoid total. *Jurnal Ilmiah Sains*, 25(1), 1–12.
- Zahra, Y., Hendrawan, S., & Ferdinal, F. (2025). Analisis fitokimia dan kapasitas total antioksidan ekstrak daun katemas (*Euphorbia heterophylla*). *Wahana-Bio: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 17(1), 35–47. <https://doi.org/10.20527/wb.v17i1.22924>