



Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Brotowali sebagai Diabetes Ulkus

Jhon Evan Iskandar Manullang¹, Novitaria Br Sembiring^{2*}, Astriani Natalia Br Ginting³

¹Bachelor of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, 20118, Indonesia

^{2*}Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, 20118, Indonesia

³PUI Phyto Degenerative & Lifestyle Medicine, Universitas Prima Indonesia

Email: ¹jhovann03@gmail.com, ^{2*}novitariabrsembiring@unprimdn.ac.id,

³astrianiataliabrginting@unprimdn.ac.id

Abstract

*Diabetic ulcers are a chronic complication of diabetes mellitus characterized by impaired wound healing due to increased oxidative stress. One therapeutic approach that can be developed is the use of medicinal plants with antioxidant activity, such as *Tinospora crisa* leaves (*Tinospora crisa*), which contain flavonoids. This study aimed to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of *Tinospora crisa* leaf fractions. Extraction was carried out using 96% ethanol, followed by fractionation using *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Flavonoid content was determined using UV-Vis spectrophotometry using quercetin as a standard at a wavelength of 430.5 nm, while antioxidant activity was tested using the DPPH method. The results showed that the *Tinospora crisa* leaf aqueous fraction contained flavonoids of 0.2179 mg QE/g, with a linear calibration curve ($R^2 = 0.997$). Furthermore, the aqueous fraction demonstrated very strong antioxidant activity with an IC_{50} value of $\pm 16 \mu\text{g/mL}$. Based on these results, the water fraction of brotowali leaves has the potential to be a source of natural antioxidants that can support the healing of diabetic ulcers by suppressing oxidative stress.*

Keywords: Diabetic Ulcers, *Tinospora Crisa*, Flavonoids, Antioxidants, DPPH.

Abstrak

Ulkus diabetikum merupakan komplikasi kronis diabetes mellitus yang ditandai dengan gangguan penyembuhan luka akibat peningkatan stres oksidatif. Salah satu pendekatan terapi yang dapat dikembangkan adalah pemanfaatan tanaman obat yang memiliki aktivitas antioksidan, seperti daun brotowali (*Tinospora crisa*) yang mengandung flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan fraksi daun brotowali. Ekstraksi dilakukan menggunakan etanol 96% yang dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan standar kuersetin pada panjang gelombang 430,5 nm, sedangkan aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air daun brotowali memiliki kadar flavonoid sebesar 0,2179 mg QE/g dengan nilai linearitas kurva kalibrasi ($R^2 = 0,997$). Selain itu, fraksi air menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $\pm 16 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil tersebut, fraksi air daun brotowali berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang dapat mendukung penyembuhan ulkus diabetikum melalui penekanan stres oksidatif.

Kata Kunci: Ulkus Diabetikum, *Tinospora Crisa*, Flavonoid, Antioksidan, DPPH.

1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah penyakit metabolik kronis yang sering menimbulkan komplikasi, salah satunya adalah ulkus diabetikum, yang terjadi pada ekstremitas bawah karena kombinasi hiperglikemia kronis, neuropati perifer, dan masalah vaskular. Kondisi

ini menyebabkan luka yang sulit sembuh, rentan terhadap infeksi, dan berisiko tinggi menyebabkan amputasi, yang berdampak pada kualitas hidup pasien dan beban pelayanan kesehatan. Ulkus diabetikum membutuhkan waktu terapi yang lebih lama dibandingkan ulkus/luka biasa pada manusia normal oleh karena itu penanganan luka ini harus dilakukan dengan tepat karena jika penanganan yang tidak tepat maka adanya kemungkinan dilakukan amputasi ekstremitas bagian bawah (Farren et al., 2025).

Hampir setiap fase penyembuhan luka pada penderita diabetes mengalami kesulitan. Disfungsi sel imun, penurunan aktivitas fibroblas dan keratinosit, dan gangguan angiogenesis adalah semua efek dari hiperglikemia kronis. Oleh karena itu, luka cenderung tetap dalam fase inflamasi yang berkepanjangan dan tidak dapat memasuki fase proliferasi yang ideal. Selain itu, gangguan mikrosirkulasi mengurangi pasokan oksigen dan nutrisi ke jaringan luka, yang menyebabkan proses penyembuhan menjadi lebih lambat (Hikmad Elsi Enoni Harefa et al., 2025).

Salah satu penyebab utama keterlambatan penyembuhan ulkus diabetikum adalah stres oksidatif. Jika kadar glukosa darah meningkat, terjadi peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS), yang menyebabkan kerusakan sel dan matriks ekstraseluler. Migrasi dan proliferasi sel, yang bertanggung jawab atas penyembuhan luka dan memperburuk respon inflamasi dihambat oleh ROS (Ahmad et al., 2016). Oleh karena itu, dalam pengobatan ulkus diabetikum, pendekatan terapi yang mampu menekan stres oksidatif sangat penting.

Semakin banyak penelitian yang dilakukan tentang penggunaan tanaman obat untuk mendukung penyembuhan luka diabetikum. Diketahui bahwa tanaman obat mengandung berbagai metabolit sekunder yang melakukan aktivitas biologis. Antioksidan dan antiinflamasi adalah contoh metabolit sekunder ini. Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang paling banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan kuat, dan mereka bertanggung jawab untuk mendukung regenerasi jaringan luka dan menurunkan stres oksidatif (Bangar et al., 2024).

Selain berfungsi untuk mengontrol inflamasi dan meningkatkan sintesis kolagen, flavonoid memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron atau atom hidrogen. Oleh karena itu, kandungan flavonoid dalam bahan alam sering dianggap sebagai tanda bahwa itu memiliki potensi pengobatan untuk menyembuhkan luka diabetes (Puspitasari et al., 2018). Kajian di Indonesia menunjukkan bahwa pengobatan tanaman obat berbasis tanaman dapat mempercepat penyembuhan ulkus kaki diabetik dan menurunkan gejala inflamasi lokal (Suhesti & Rusmalina, 2021).

Dalam pengobatan tradisional, brotowali, atau *Tinospora crispa*, adalah salah satu tanaman yang telah lama digunakan sebagai antidiabetes. Kajian etnofarmakologi dan farmakologi menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki berbagai sifat biologis, termasuk antidiabetik, antiinflamasi, dan antioksidan, yang terkait dengan kandungan metabolit sekundernya. Flavonoid, senyawa fenolik, alkaloid, dan terpenoid adalah beberapa senyawa aktif *Tinospora crispa*.

Selain memiliki kemampuan sebagai antioksidan, flavonoid juga dapat menghambat kerja enzim aldose reduktase, yaitu enzim yang mengubah gula dan galaktosa menjadi bentuk poliol. Bersifat sebagai reduktor, flavonoid mampu bertindak sebagai donor hidrogen bagi radikal bebas, sehingga membantu mengurangi kerusakan oksidatif di dalam tubuh (Desita et al., 2025).

Ada bukti bahwa beberapa bagian daun brotowali memiliki tingkat antioksidan yang tinggi. Kemampuannya untuk menangkap radikal bebas telah ditunjukkan oleh uji aktivitas antioksidan ekstrak daun brotowali, salah satunya dengan metode DPPH. Namun, metode ekstraksi dan fraksinasi sangat mempengaruhi aktivitas biologis ekstrak tanaman, proses fraksinasi memisahkan senyawa aktif berdasarkan perbedaan polaritas, menghasilkan fraksi yang memiliki berbagai aktivitas antioksidan (Ahmad et al., 2016).

Temuan penelitian tentang ekstrak daun brotowali telah menunjukkan sifat antioksidannya. Namun, penelitian saat ini sebagian besar terbatas pada penggunaan ekstrak kasar tanpa memisahkan senyawa aktif secara khusus. Akibatnya, mereka belum dapat menjelaskan distribusi flavonoid pada masing-masing fraksi dan hubungannya dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Selain itu, penelitian yang mengaitkan aktivitas antioksidan dari fraksi tertentu daun brotowali dengan potensi pengobatannya untuk membantu penyembuhan ulkus diabetikum masih sangat sedikit. Ini menunjukkan bahwa masih ada banyak ruang untuk penelitian antara studi fitokimia dan manfaatnya untuk komplikasi diabetes. Oleh karena itu, untuk membedakan senyawa aktif berdasarkan sifat kelarutannya, penelitian ini menggunakan pendekatan fraksinasi dengan pelarut yang berbeda kepolaran. Pelarut ini termasuk air (polar), etil asetat (semi-polar), dan n-heksana (nonpolar). Ini menghasilkan fraksi yang mengandung senyawa bioaktif yang lebih spesifik. Penelitian ini berfokus pada analisis kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi daun brotowali berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut serta evaluasi hubungan keduanya sebagai dasar inquiry. Pendekatan ini penting karena flavonoid sebagai senyawa utama antioksidan cenderung larut dalam pelarut semi-polar, yang memungkinkan perolehan fraksi dengan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak kasar (Suhesti & Rusmalina, 2021).

Uraian tersebut menunjukkan bahwa penelitian perlu dilakukan tentang uji total flavonoid dan aktivitas antioksidan fraksi daun brotowali. Ini akan memberikan dasar ilmiah untuk kemungkinan penggunaan daun brotowali sebagai obat alami yang membantu penyembuhan ulkus diabetikum. Meskipun sistem antioksidan berbasis enzim tubuh manusia seringkali tidak cukup untuk menangkal radikal bebas yang masuk. Antioksidan adalah zat yang dapat menghentikan reaksi oksidasi dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas, bertindak sebagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas (Waruwu et al., 2025).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Salsabila & Ginting, 2025), melaporkan bahwa ekstrak herbal menunjukkan aktivitas antidiabetik yang signifikan pada model diabetes hewan, yang menunjukkan peran senyawa bioaktif dalam mengurangi dampak patologis diabetes. Selain itu (Sihaloho et al., 2025), menemukan bahwa ekstrak tumbuhan kaya senyawa antioksidan dapat memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Temuan ini memperkuat dasar ilmiah bahwa tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen pendukung penyembuhan luka diabetes, sehingga pengujian total flavonoid dan aktivitas antioksidan dari fraksi daun brotowali (*Tinospora crispa*) adalah relevan dan penting untuk dilakukan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian eksperimental laboratoris ini bertujuan untuk mengukur jumlah flavonoid total, menilai aktivitas antioksidan, dan menilai potensi farmakologi fraksi daun brotowali yang diambil dari daerah Lau Simeme sebagai obat untuk mengobati ulkus diabetik. Metode kuantitatif digunakan untuk menganalisis fitokimia dan aktivitas biologis.

2.1 Alat dan bahan

Peralatan yang dalam penelitian ini meliputi rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, corong pisah, oven pengering, timbangan analitik, gelas beaker, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, batang pengaduk, dan kertas saring. Bahan yang digunakan terdiri atas daun brotowali (*Tinospora crispa*) segar, pelarut etanol 96%, n-

heksana, etil asetat, dan akuades. Reagen yang digunakan untuk analisis flavonoid meliputi aluminium klorida (AlCl_3), natrium nitrit (NaNO_2), dan natrium hidroksida (NaOH). Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan reagen DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), dengan kuersetin sebagai standar untuk pengukuran flavonoid dan vitamin C sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan.

2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses Ekstraksi: Masukkan 200g serbuk daun ke dalam labu refluks, tambahkan 2000mL etanol 96% ke dalam labu, tunggu selama 24 jam sambil diaduk perlahan setiap 6-8 jam sekali, setelah 24 jam pelarut diganti dan lakukan selama 3 hari. Setelah ekstraksi, saring campuran menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu padat, kumpulkan filtrat dan evaporasikan pelarutnya menggunakan rotary evaporator pada suhu $40\text{-}50^\circ\text{C}$ hingga diperoleh ekstrak kental, simpan ekstrak dalam botol gelap pada suhu 4°C hingga analisis lebih lanjut. Rendemen ekstrak dihitung untuk mengetahui efisiensi proses ekstraksi dengan membandingkan berat ekstrak kental yang diperoleh terhadap berat simplisia awal. Perhitungan rendemen dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

Fraksinasi Ekstrak: Larutkan ekstrak kental dalam 100 mL air suling, masukkan larutan ke dalam corong pisah dan tambahkan 100 mL n-heksana, kocok perlahan dan biarkan fase terpisah, kumpulkan fraksi n-heksana, ulangi proses dengan etil asetat untuk mendapatkan fraksi etil asetat, kumpulkan masing-masing fraksi dan evaporasikan pelarutnya menggunakan rotary evaporator, simpan fraksi kering dalam botol gelap pada suhu 4°C hingga analisis. Selanjutnya, rendemen masing-masing fraksi dihitung dengan membandingkan berat fraksi yang diperoleh terhadap berat ekstrak awal. Perhitungan rendemen fraksi dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen fraksi (\%)} = \frac{\text{berat fraksi (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} \times 100\%$$

Perhitungan rendemen ini bertujuan untuk mengetahui distribusi senyawa berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi.

2.3 Prosedur Penelitian Total Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Induk Baku Kuersetin
Ditimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan metanol hingga diperoleh volume 100 mL sehingga diperoleh larutan kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm.
2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin
Dibuat larutan 10 ppm dengan memipet 1 ml dimasukkan ke dalam labu 10 mL. Dipipet sebanyak 0,5 mL dari larutan induk baku kuersetin 100 ppm ditambahkan 1,5 mL Etanol, 0,1 mL AlCl_3 dan 0,1 mL CH_3COONa dan 2,8 mL akuades, lalu diinkubasi selama 25 menit. Diukur panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 400 nm – 800 nm.
3. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin
Dipipet dari larutan baku kuersetin masing-masing sebanyak 0,5 mL; 1 mL; 1,5 mL; 2 dan 2,5 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing labu tentukur 5 mL lalu dicukupkan dengan metanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; dan 50 ppm. Dipipet 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 1,5 mL Etanol, 0,1 mL AlCl_3 dan 0,1 mL CH_3COONa dan 2,8 mL akuades, lalu diinkubasi selama 25 menit. Diukur absorbansi dari masing-masing

konsentrasi secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Diperoleh kurva kalibrasi kuersetin serta persamaan garis regresi linear $y = ax + b$.

4. Penetapan Kadar Total Flavonoid

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak, dilarutkan dengan 10 mL pelarut metanol hingga diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm. Dipipet larutan sebanyak 0,5 mL, ditambahkan dengan 1,5 mL Etanol, 0,1 mL $AlCl_3$ dan 0,1 mL CH_3COONa serta 2,8 mL akuades, lalu diinkubasi selama 25 menit. Diukur absorbansi secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm.

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan menggunakan metode DPPH. Sejumlah 50 $\mu g/mL$ larutan DPPH disiapkan melalui pelarutan 2,5 mg DPPH dalam metanol p.a hingga mencapai volume akhir 50 mL. Larutan stok asam askorbat pada konsentrasi 200 $\mu g/mL$ dibuat dengan melarutkan 20 mg asam askorbat dalam 100 mL metanol p.a. Konsentrasi 10.000 $\mu g/mL$ untuk larutan sampel ekstrak dicapai dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam 1.000 μL metanol p.a. Setelah itu, larutan disaring dan filtratnya digunakan sebagai sampel uji. Untuk pengujian antioksidan asam askorbat, disiapkan setidaknya enam variasi konsentrasi dari larutan stok, di mana setiap konsentrasi disiapkan dalam tiga replikat. Selanjutnya, masing-masing diencerkan dengan metanol p.a hingga volume 125 μL dan dicampur dengan 750 μL larutan DPPH. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan dalam kondisi terlindung dari cahaya. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, dengan rentang absorbansi yang diharapkan antara 0,2–0,8. Tingkat eliminasi radikal bebas diukur pada setiap konsentrasi, kemudian data ini digunakan untuk membentuk kurva kalibrasi asam askorbat, dengan nilai koefisien determinasi (R^2) minimal 0,99. Penilaian kapabilitas antioksidan sampel dilaksanakan pada kondisi yang serupa, menggunakan volume sampel 12,5 μL yang diencerkan dengan metano p.a menjadi total volume 125 μL . Campuran ini kemudian direaksikan dengan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kegelapan. Kapabilitas antioksidan sampel dievaluasi berdasarkan persentase eliminasi yang teramati dan diapresiasi dalam bentuk kesetaraan asam askorbat, yakni setara mg asam askorbat (AAE)/gram sampel (Bangar et al., 2026).

2.5 Validasi Metode

Untuk memastikan keandalan analisis, metode divalidasi dengan menentukan parameter linearitas, batas deteksi (LOD), dan batas jumlah (LOQ) berdasarkan kurva kalibrasi kuersetin. Kurva kalibrasi dibuat untuk rentang konsentrasi dari 2 hingga 10 ppm. Kurva ini menunjukkan hubungan linear dengan persamaan regresi dengan $y = 0,0566x + 0,062$ dan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,997. Untuk mengetahui nilai LOD dan LOQ, rumusnya adalah $LOD = 3,3 (SD/Slope)$ dan $LOQ = 10$.

2.6 Analisis Data

Hasil pengukuran kuantitatif flavonoid total dan kapasitas antioksidan diuraikan menggunakan metode deskriptif. Untuk mengevaluasi linearitas metode, korelasi antara konsentrasi dan nilai absorbansi dianalisis melalui analisis regresi linear, temuan dari studi ini disajikan dalam format tabular dan grafis. Analisis kuantitatif data dilaksanakan dengan memanfaatkan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kurva kalibrasi untuk flavonoid dan aktivitas antioksidan dikonstruksi berdasarkan data absorbansi dari larutan standar. Selanjutnya, kurva tersebut dianalisis melalui regresi

linier guna mendapatkan persamaan linear dan nilai koefisien determinasi (R^2) yang berfungsi sebagai penanda linearitas metode. Seluruh proses komputasi data, meliputi perhitungan regresi linier, penentuan nilai R^2 , serta visualisasi grafik, diselesaikan dengan bantuan perangkat lunak Microsoft Excel.

Jumlah total flavonoid dalam sampel diukur menggunakan persamaan regresi dari kurva standar, dan hasilnya dilaporkan sebagai ekuivalen kuersetin. Kapasitas antioksidan diukur berdasarkan persentase inhibisi radikal bebas DPPH, yang ditentukan dari data absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Nilai aktivitas antioksidan sampel dihitung dengan menerapkan persentase inhibisi ke dalam persamaan regresi standar asam askorbat, dan dilaporkan sebagai kesetaraan asam askorbat, yaitu mg ekuivalen asam askorbat (AAE) per gram sampel. Semua pengukuran diulang, dan data disajikan sebagai nilai rata-rata.

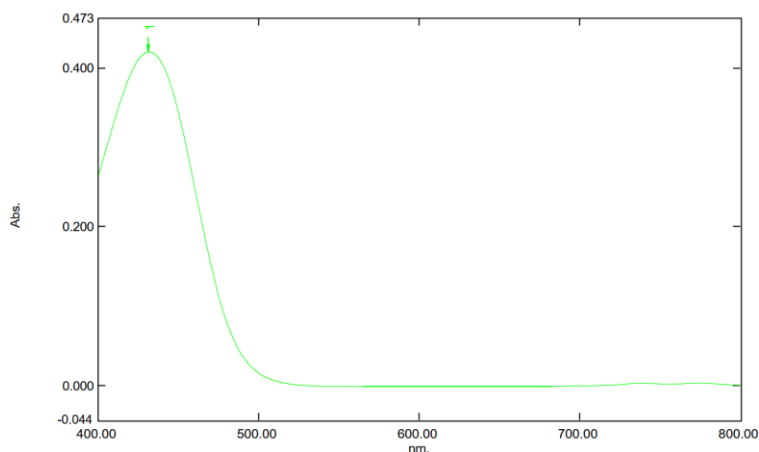
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi daun brotowali (*Tinospora crispa*) menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak kental dengan rendemen 12,50%. Selanjutnya, ekstrak difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Hasil fraksinasi menunjukkan rendemen fraksi n-heksana 1,80%, fraksi etil asetat 3,70%, dan fraksi air 4,20%.

Perbedaan dalam nilai rendemen pada masing-masing fraksi menunjukkan distribusi senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Rendemen tertinggi dari fraksi air menunjukkan bahwa senyawa polar mendominasi daun brotowali. Senyawa polar seperti flavonoid dan fenolik berpotensi memiliki aktivitas biologis yang signifikan karena kecenderungan mereka untuk larut dalam pelarut polar.

3.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin



Gambar 1. Kurva Spektrum Serapan Kuersetin (400–800 nm)

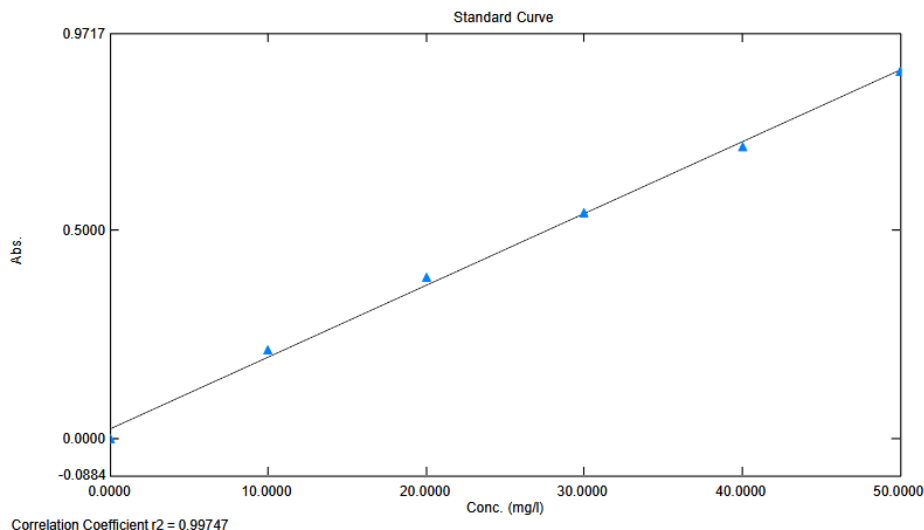
Tabel 1. Hasil Penetapan Panjang Gelombang

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	↑	430.50	0.435	
2	↓	530.10	-0.000	

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin sebagai standar flavonoid dilaksanakan dengan memakai spektrofotometer UV-Vis dalam interval panjang gelombang 400–800 nm. Data pemindaian merekam puncak penyerapan

tertinggi pada panjang gelombang 430,5 nm dengan tingkat absorbansi 0,435. Nilai ini kemudian dipergunakan sebagai panjang gelombang acuan dalam estimasi konsentrasi flavonoid total. Hasil yang diperoleh konsisten dengan profil spektrum serapan kuersetin yang telah dipublikasikan melalui metode kolorimetri aluminium klorida, di mana senyawa kompleks flavonoid–AlCl₃ memperlihatkan penyerapan optimal pada rentang 415–440 nm.

3.3 Kurva Kalibrasi Flavonoid



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Kurva kalibrasi untuk senyawa flavonoid dibuat dengan memanfaatkan larutan standar kuersetin yang memiliki rentang konsentrasi dari 0 hingga 40 mg/L. Data hasil pengukuran mengindikasikan adanya korelasi linier antara konsentrasi kuersetin dan nilai absorbansi yang terukur. Korelasi ini ditunjukkan dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,99747. Nilai R^2 yang mendekati satu ini mengindikasikan bahwa metode yang digunakan memiliki tingkat linearitas yang baik dan telah memenuhi standar yang ditetapkan untuk analisis kuantitatif. Oleh karena itu, persamaan regresi yang dihasilkan dari kalibrasi ini layak digunakan untuk menentukan jumlah total flavonoid dalam sampel fraksi daun brotowali.

3.4 Kadar Total Flavonoid Fraksi Air Daun Brotowali

Tabel 2. Perbandingan Kadar Flavonoid Fraksi Daun Brotowali

Fraksi	Kadar Flavonoid	Keterangan
n-heksana	–	Tidak dianalisis
etil asetat	–	Tidak dianalisis
air	0,2179 mg QE/g	Dianalisis

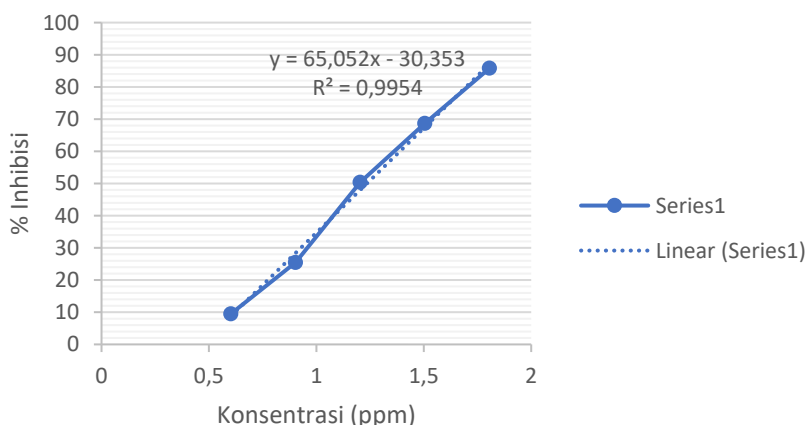
Hasil penetapan kadar flavonoid menunjukkan bahwa fraksi air daun brotowali (*Tinospora crispa*) memiliki kadar flavonoid sebesar 0,2179 mg QE/g. Nilai ini menunjukkan bahwa fraksi polar mengandung senyawa flavonoid dalam jumlah tertentu yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Menurut perhitungan yang dilakukan menggunakan persamaan regresi kurva standar kuersetin, fraksi daun brotowali menunjukkan variasi dalam kandungan flavonoid. Variasi kadar flavonoid ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan selama proses fraksinasi.

Pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dapat mengekstraksi berbagai jenis dan jumlah senyawa flavonoid. Karena sifatnya yang semi-polar hingga polar, sebagian besar fraksi air mengandung flavonoid.

Diketahui bahwa flavonoid berfungsi sebagai antioksidan alami melalui mekanisme pendonoran atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas. Selain itu, flavonoid memiliki kemampuan untuk mengkelat ion logam transisi yang bertanggung jawab untuk pembentukan radikal bebas, yang berarti mereka dapat menghentikan reaksi oksidatif yang lebih kompleks yang terjadi pada jaringan biologis.

Meskipun penelitian ini hanya menganalisis fraksi air, secara teoritis flavonoid umumnya bersifat semi-polar hingga polar, sehingga dapat terdistribusi dalam pelarut air maupun etil asetat. Kandungan flavonoid dalam fraksi air menunjukkan bahwa sebagian senyawa flavonoid dalam brotowali memiliki polaritas tinggi, sehingga mudah larut dalam pelarut polar. Tingginya kadar flavonoid pada fraksi air menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam daun brotowali cenderung bersifat polar. Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil (-OH) pada struktur flavonoid yang meningkatkan kelarutan dalam pelarut polar seperti air.

3.5 Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun Brotowali Metode DPPH



Gambar 3. Kurva Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun Brotowali Metode DPPH

Aktivitas antioksidan fraksi air daun brotowali diuji menggunakan metode DPPH dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Persentase peredaman radikal bebas dihitung dengan mengolah data absorbansi, yang kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀.

Semua proses pengolahan data dilakukan menggunakan Microsoft Excel untuk menghitung persen peredaman, larutan kontrol blanko DPPH menunjukkan nilai absorbansi rata-rata 0,0602. Hasil uji menunjukkan bahwa dengan meningkatkan konsentrasi fraksi air daun brotowali, tingkat peredaman radikal bebas DPPH meningkat. Pada konsentrasi 4 g/mL, peredaman sebesar 9,51%, meningkat menjadi 25,48% pada konsentrasi 8 g/mL, 50,39% pada konsentrasi 16 g/mL, 68,68% pada konsentrasi 32 g/mL, dan 85,82% pada konsentrasi 64 g/mL.

Korelasi antara tingkat konsentrasi fraksi air daun brotowali dan persentase penekanan DPPH menunjukkan pola respons-dosis yang linier. Kurva hubungan konsentrasi dengan persen penekanan radikal bebas DPPH ditampilkan pada Gambar 3. Berdasarkan persamaan regresi linier dari kurva itu, nilai IC₅₀ fraksi air daun brotowali diperoleh sebesar ±16 µg/mL, yang menunjukkan bahwa fraksi air daun brotowali memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Puspitasari et al., 2018).

Berdasarkan kurva regresi linear antara konsentrasi dan persen peredaman DPPH, diperoleh nilai IC₅₀ fraksi air daun brotowali sebesar $\pm 16 \mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan bahwa fraksi air daun brotowali memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan bahwa sampel bisa menetralkan 50% radikal bebas pada konsentrasi yang cukup kecil.

Kegiatan antioksidan fraksi air daun brotowali diperkirakan berkaitan dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder, terutama flavonoid dan senyawa fenolik polar. Flavonoid dikenal memiliki kelompok hidroksil fenolik yang berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas serta menghentikan reaksi oksidatif berantai (Roni et al., 2022). Selain itu, fraksi air memiliki potensi untuk mengekstrak senyawa polar lainnya yang berkontribusi secara sinergis dalam aktivitas antioksidan.

Dalam proses penyembuhan luka diabetes, stres oksidatif memiliki pengaruh signifikan dalam menghalangi regenerasi jaringan. Produksi radikal bebas yang berlebihan dapat memperpanjang fase peradangan dan menghambat pertumbuhan sel serta angiogenesis. Kekuatan aktivitas antioksidan dari fraksi air daun brotowali dapat mengurangi stres oksidatif, sehingga mendukung penyembuhan luka pada diabetes (Suhesti & Rusmalina, 2021).

3.6 Hubungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan

Kandungan flavonoid dalam fraksi air berkontribusi pada sifat antioksidannya. Sebagian besar orang tahu bahwa flavonoid dapat memberikan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, menghentikan reaksi oksidasi berantai.

Tingginya aktivitas pada fraksi air menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam brotowali memiliki kecenderungan bersifat polar, sehingga lebih banyak tersebar dalam pelarut air. Selain itu, ada kemungkinan bahwa senyawa fenolik lain yang bersifat hidrofilik juga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

3.7 Implikasi terhadap Penyembuhan Ulkus Diabetikum

Aktivitas antioksidan dari fraksi air berpotensi dalam mendukung penyembuhan ulkus diabetikum melalui penurunan stres oksidatif akibat peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS). Stres oksidatif diketahui berperan dalam memperlambat proses penyembuhan luka dengan merusak sel dan matriks ekstraseluler.

Flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim matrix metalloproteinase (MMP) yang berperan dalam degradasi jaringan, serta meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) yang berperan dalam angiogenesis. Dengan demikian, aktivitas antioksidan dari fraksi air brotowali dapat mempercepat regenerasi jaringan dan penyembuhan luka pada kondisi diabetes.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air dari daun brotowali (*Tinospora crispa*) mengandung senyawa dengan aktivitas antioksidan yang signifikan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa fraksi air daun brotowali dapat menetralkan radikal bebas secara signifikan, dengan peningkatan persen penetralan sebanding dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Nilai IC₅₀ fraksi air daun brotowali yang didapat dari analisis regresi mencerminkan potensi antioksidan yang besar.

Kegiatan antioksidan fraksi air daun brotowali diduga sangat terkait dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder, terutama flavonoid dan senyawa fenolik polar,

yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas melalui mekanisme sumbangan atom hidrogen atau elektron. Kegiatan ini memiliki relevansi biologis yang signifikan dalam konteks penyembuhan luka diabetes, mengingat peran stres oksidatif dalam menghalangi proses regenerasi jaringan. Fraksi air dari daun brotowali berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan alami yang mendukung terapi penyembuhan luka diabetes yang berbasis antioksidan.

REFERENCES

- Ahmad, W., Jantan, I., & Bukhari, S. N. A. (2016). *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A review of its ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7(MAR), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00059>
- Bangar, R. I., Nastira Ningsih, K., Emran Kartasasmita, R., & Insanu, M. (2024). Isolation of α -glucosidase enzyme inhibitor from titanus (*Leea aequata* L.). *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 6(1), 2024–2065. <https://doi.org/10.5614/crbb.2024.6.1/XCGSRS5W>
- Bangar, R. I., Saraswati, G., & Waruwu, L. D. K. Y. (2026). Exploration and Characterization of Natural Antioxidant Compounds from *Leea aequata* L. Leaves through In Vitro Evaluation. *Proceedings of the 2nd International Conference on Lifestyle Diseases and Natural Medicine (ICOLIFEMED 2025)*, 310.
- Desita, M., Bangar, R. I., & Ginting, A. N. B. (2025). Efek Pemberian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus Maxima* Merr) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Hiperглиkemia. *Journal Sains Student Research*, 3(6), 1252–1264. <https://doi.org/10.61722/jssr.v3i6.7120>
- Farren, Meutia, R., Ginting, A. N. B., & Lubis, A. A. (2025). Potensi Aktivitas Antibakteri Antara Ekstrak dan Fraksi Kulit Jeruk Terhadap Ulkus Diabetes. *Jurnal Kesehatan Amanah*, 9(1), 72–81. <https://doi.org/10.57214/jka.v9i1.765>
- Hikmad Elsi Enoni Harefa, Astriani Natalia Br Ginting, Rena Meutia, & Nerly Juli Pranita Simanjuntak. (2025). Activity Test Of Salam Extract (*Syzygium polyanthum*) On Diabetes Disease Using White Rats (*Ratus Novergicus*). *Jurnal Sains Farmasi Dan Kesehatan*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.62379/jfkes.v3i1.2609>
- Puspitasari, L., Rijai, L., & Herman. (2018). Identifikasi golongan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak daun brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). *Sainstec Farma*, 11(1), 18–24.
- Roni, A., Kurnia, D., & Hafsyah, N. (2022). PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.) DENGAN METODE CUPRAC. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 7(1), 165–173.
- Salsabila, T., & Ginting, A. N. B. (2025). Uji Aktivitas Anti Diabetes Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa*) pada Tikus Putih (*Rattus Noverginus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 359–372. <https://doi.org/10.55606/klinik.v4i1.5142>
- Sihaloho, R. S. B., Lubis, A. A. L., & Sembiring, N. B. (2025). Efektivitas Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) sebagai Nefroprotektor terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Gentamisin. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(1), 256–268. <https://doi.org/10.55606/klinik.v4i1.5147>
- Suhesti, & Rusmalina, S. (2021). Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Berkhasiat Pada Penyembuhan Luka Diabetes. *RISTEK : Jurnal Riset, Inovasi Dan Teknologi Kabupaten Batang*, 5(2), 35–40. <https://doi.org/10.55686/ristek.v5i2.98>
- Waruwu, L. D. K. Y., Bangar, R. I., Kaban, V. E., & Sembiring, N. B. (2025). Pharmaceutical and Clinical Journal of Nusantara (PCJN) Antioxidant Activity Test of The Ethyl Acetate Fraction of Tetanus Leaf (*Leea aequata* L.) Using The DPPH Method. *Pharmaceutical and Clinical Journal of Nusantara*, 03(01), 21–25. [https://doi.org/10.58549/pcjn.v3i01.88](https://nusantarascientificjournal.com/index.php/pcjn/indexhttps://doi.org/10.58549/pcjn.v3i01.88)

- Soelistijo S. 2021. Guidelines for the Management and Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus in Adults in Indonesia 2021 (in Indonesian). In Global Initiative for Asthma.
Jakarta, Indonesia.
- PERKENI. 2021. Guidelines for the Management and Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus in Adults in Indonesia 2021 (in Indonesian). Jakarta, Indonesia.
- Estefania, V. et al. ORIGINAL ARTICLE The effect of turmeric parent extract gel (*Curcuma longa* Linn) on incision wound healing in male white rats (*Rattus norvegicus*) Pengaruh gel ekstrak induk kunyit (*Curcuma longa* linn) terhadap penyembuhan luka sayat pada tikus putih . 616–627 (2024).
- Mahdalena, D., Armaita & Maifita, Y. Analisis Aktivitas Anti Oksidan Flavonoid Daun
Ekor Naga (*Rhapidhophora pinnata* Schott) dengan Dosis Bertingkat terhadap Hematokrit dan Kadar HB Mus Musculus Babc Albino Jantan yang Diberi Paparan Asap Rokok. -Shiha J. Med. Research 1, 12–20 (2020).
- Devi Reskita Cahyani, Tamrin & RH.Fitri Faradilla. Evaluasi Metode In Vitro Pada Analisis Aktivitas Antioksidan Beberapa Buah Tropis: Studi Kepustakaan [Evaluation In Vitro Method Analysis In Antioxidant Activities of Some Tropical Fruits:A Review]. J Sains Dan Teknol. Pangan 5, 3466–3480 (2020).
- Lubis, M. F., Syahputra, H., Illian, D. N. & Kaban, V. E. Antioxidant activity and nephroprotective effect of *Lansium parasiticum* leaves in doxorubicin-induced rats. J. Res. Pharm. 26, 565–573 (2022).
- Pratiwi, A. R., Yusran, Islawati & Artati. Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Bioma J. Biol. Makassar 8, 66–74 (2023).
- Makalunsenge, M. O., Yudistira, A. & Rumondor, E. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari *Callyspongia aerizusa* yang Diperoleh dari Pulau Manado Tua. Pharmacon 11, 1679–1684 (2022).