



TINJAUAN NARATIF UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI
MINYAK KELAPA MURNI (*VIRGIN COCONUT OIL*)
SECARA *IN VITRO*

NAMA : Budi Mulyawan Pratama

NIM : 17330052

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

JAKARTA

10 JULI 2022



**TINJAUAN NARATIF UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI
MINYAK KELAPA MURNI (*VIRGIN COCONUT OIL*)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Farmasi

NAMA : Budi Mulyawan Pratama

NIM : 17330052

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

JAKARTA

MARET 2022

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Budi Mulyawan Pratama

NPM : 17330052

Tanggal : Maret 2022



(Budi Mulyawan Pratama)

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Budi Mulyawan Pratama

NPM : 17330052

Mahasiswa : Fakultas Farmasi

Tahun Akademik : 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul **Tinjauan Naratif Uji Aktivitas Antioksidan Dari Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro***.

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, Maret 2022



(Budi Mulyawan Pratama)




HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Budi Mulyawan Pratama
NPM : 17330052
Program Studi : Fakultas Farmasi
Judul Skripsi : Tinjauan Naratif Uji Aktivitas Antioksidan Dari Minyak
Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro*

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Prof. Dr. Amlius Thalib	()
Pembimbing II	: Munawarohthus Sholikha, M. Si.	()
Penguji I	: Dr. Apt. Tiah Rachmatiah, M. Si.	()
Penguji II	: Apt. Erwi Putri Setyaningsih, M. Si.	()
Penguji III	: Saiful Bahri, M. Si.	()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : Maret 2022

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, dan karunia-Nya. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan akhir yang berjudul “ **Tinjauan Naratif Aktivitas Antioksidan Dari Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro***“

Penulis sadari dalam penyusunan laporan akhir ini masih banyak terdapat kesalahan dan kekurangan dikarenakan kebatasan penulis. Namun, penulis telah berusaha sebaik-baiknya dalam menyelesaikan laporan akhir ini. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan laporan akhir ini tidak terlepas dari bimbingan, arahan, dukungan serta do'a dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada :

1. Ibu Yayah Siti Jariah, S.Si., M.Si., Apt. Selaku Ketua Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.
2. Bapak Prof. Dr. Amlius Thalib. Selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Munawarohthus Sholikha, M.Si. Selaku dosen Pembimbing II yang dengan segala kesabarannya telah berkenan meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan kritik, serta saran yang sangat berharga dalam penyusunan laporan akhir ini.
3. Kedua Orang tuaku tercinta Ayah dan Ibu, terima kasih atas do'a, cinta, dan kasih sayang yang tiada henti-hentinya dalam memberikan semangat kepada penulis serta telah sekuat tenaga memenuhi segala kebutuhan penulis.
4. Adikku Tiara Luna Landari yang selalu memberikan dorongan dan bimbingan kepada penulis agar dapat menyelesaikan laporan akhir ini dengan baik.
5. Teman-teman Farmasi 2017 yang telah lulus ataupun yang masih berjuang, terima kasih atas kebersamaanya. Bahagia dan bangganya bisa menjadi bagian dari kalian.

6. Untuk semua teman seperjuanganku tersayang, Dita, Novi, Arie, Riki, Risma, Febrianus, Zufar, Anggun, Ananda, Azizah, Wulan, Yani, Febi terima kasih atas kebersamaanya, terima kasih selalu ada disaat susah maupun senang. Bangga aku punya kalian yang luar biasa.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Jakarta, Maret 2022

Penulis,



(Budi Mulyawan Pratama)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Institut Sains dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Budi Mulyawan Pratama
NPM : 17330052
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Tinjauan Naratif Aktivitas Antioksidan Dari Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro*

Beserta perangkat yang ada (Jika Diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database) *soft copy* dan *hard copy*, merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis atau pencipta dan sebagai pemilik **Hak Cipta**.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada Tanggal : Maret 2022

Yang Menyatakan



(Budi Mulyawan Pratama)

ABSTRAK

Nama : Budi Mulyawan Pratama

Program Studi : Fakultas Farmasi

Judul : Tinjauan Naratif Aktivitas Antioksidan Dari Minyak Kelapa Murni
(*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro*

Penelitian efektifitas minyak kelapa murni atau biasa di sebut *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai antioksidan alami berdasarkan hasil uji DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) telah dilakukan dengan metode tinjauan literatur. Data utama dalam metode tinjauan literatur disusun dari artikel jurnal-jurnal hasil penelitian yang memenuhi kaidah publikasi ilmiah tingkat nasional dan internasional (terindeks Sinta) dengan berdasarkan kata kunci antioksidan, potensi aktivitas antioksidan dan minyak kelapa murni (VCO). Sumber pencarian literatur diakses melalui *search engine* diantaranya *Websites: Google Scholar, Science Direct, dan Researchgate*. Kapasitas antioksidan sampel dievaluasi berdasarkan nilai IC50. Hasil review uji aktivitas antioksidan minyak kelapa murni dari jurnal penelitian yang digunakan memperlihatkan bahwa minyak kelapa murni menunjukkan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 nya berada dalam rentangan kategori sangat kuat hingga sangat lemah (17 – 1660 ppm). Rentang kisaran nilai IC50 yang sangat jauh ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti faktor pelarut ekstraksi, metode dan proses penyediaan sediaan VCO, dan metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan.

Kata Kunci : Antioksidan, Minyak Kelapa Murni, VCO, In Vitro, FRAP

ABSTRACT

Nama : Budi Mulyawan Pratama

Program Studi : Fakultas Farmasi

Title : A Narrative Review of Virgin Coconut Oil Antioxidant Activity by
In Vitro

Research on the effectiveness of virgin coconut oil or commonly called Virgin Coconut Oil (VCO) as a natural antioxidant based on the results of the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) test has been carried out using the literature review method. The main data in the literature review method is compiled from research journal articles that meet the rules of national and international scientific publications (indexed by Sinta) based on the keywords antioxidant, antioxidant activity potential and virgin coconut oil (VCO). Sources of literature search are accessed through search engines including Websites: Google Scholar, Science Direct, and Researchgate. The antioxidant capacity of the sample was evaluated based on the IC50 value. The results of a review of the antioxidant activity test of virgin coconut oil from the research journal used showed that virgin coconut oil showed antioxidant activity based on its IC50 value which was in the very strong to very weak category (17-1660 ppm). This very wide range of IC50 values can be influenced by several factors such as the extraction solvent factor, the method and process of preparing VCO preparations, and the antioxidant activity test method used.

Keyword : *Antioxidant, Virgin Coconut Oil, VCO, In Vitro, FRAP*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Antioksidan dan Manfaatnya	5
2.1.1 Pengertian Antioksidan	5
2.1.2 Manfaat Antioksidan	6
2.2 Radikal Bebas	6
2.2.1 Pengertian Radikal Bebas	6
2.2.2 Sumber Radikal Bebas	7
2.2.3 Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas	7
2.2.4 Efek Radikal Bebas	9
2.3 Golongan Antioksidan	10
2.3.1 Antioksidan Alami	10
2.3.2 Antioksidan Sintetik	10

2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan	11
2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan	12
2.5.1 Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy).....	12
2.5.2 Pengujian Antioksidan dengan Metode TBARS (Thiobutyric Acid Reactive Species)	13
2.5.3 Pengujian Antioksidan dengan Metode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	14
2.5.4 Pengujian Antioksidan dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	14
2.6 Jenis-jenis Tanaman Kelapa	15
2.7 Deskripsi Tanaman Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>)	15
2.8 Klasifikasi Ilmiah Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>)	16
2.9 Morfologi Tanaman Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>)	17
2.10 Manfaat Tanaman Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>).....	18
2.11 Metode Pembuatan Minyak Kelapa Murni (VCO)	19
2.11.1. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Secara Umum (Setiaji B, 2006).....	19
2.11.2. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Pemanasan (Indriarta, 2019)	20
2.11.3. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Fermentasi (Indriarta, 2019)	21
2.11.4. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Enzimatis ..	22
2.11.5. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Pemancingan (Julius Pontoh, 2008).....	22
2.11.6 Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Penggaraman	23
2.12 Kandungan Kimia <i>Coconut Oil</i> & <i>Virgin Coconut Oil</i>	24
2.13 Aktivitas Farmakologi Minyak Kelapa Murni (VCO).....	25
2.14 Kriteria Tingkatan Aktivitas Antioksidan	27
2.15 Potensi Aktivitas Antioksidan VCO	27
BAB III METODE PENELITIAN	31

3.1 Jenis Penelitian	31
3.2 Cara Pengambilan Data	31
3.3 Skema Penelusuran Jurnal	32
3.4 Kriteria	32
3.4.1 Inklusi	32
3.4.2 Eklusi	33
3.5 Skema Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Senyawa Virgin Coconut Oil dan CO yang berperan sebagai antioksidan	35
4.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	37
4.3 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	42
BAB V PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bunga Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>).....	16
Gambar 2.2 Buah Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>).....	17
Gambar 2.3 Pohon Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>).....	17

DAFTAR TABEL

Tabel 2.12.1 Hasil Skrining Fitokimia <i>Virgin Coconut Oil</i>	24
Tabel 2.12.2 Kandungan kimia <i>Coconut Oil</i> dan <i>Virgin Coconut Oil</i>	25
Tabel 4.1.1 Hasil Skiring Fitokimia <i>Virgin Coconut Oil</i>	35
Tabel 4.1.2 Senyawa <i>Virgin Coconut Oil</i> yang berperan sebagai antioksidan.....	36
Tabel 4.2.1 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	38
Tabel 4.3.1 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	42

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. *Evaluation of Physiochemical, Antioxidant, Proximate and Nutritional Values of Virgin Coconut Oil (Cocos nucifera).....49*
- Lampiran 2. *Hot-processed Virgin Coconut Oil Abrogates Cisplatin-induced Nephrotoxicity by Restoring Redox Balance in Rats Compared to Fermentation-processed Virgin Coconut Oil.....50*
- Lampiran 3. *Potensi Antioksidan Dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Dari Tanaman Kelapa Asal Papua.....51*
- Lampiran 4. *Edible Dairy Formula Fortified with Coconut Oil for Neuroprotection Against Aluminium Chloride-induced Alzheimer's Disease in Rats.....52*
- Lampiran 5. *Antioxidant Capacity and Phenolic Acids of Virgin Coconut Oil...53*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Kelapa sangat sering disebut dengan tanaman kehidupan dikarenakan semua bagian nya dapat dimanfaatkan dan dapat diolah menjadi suatu produk (Melati Ananda, 2020). Salah satu produk kelapa yang saat ini berkembang dan cukup diminati adalah Minyak Kelapa Murni atau *Virgin Coconut Oil* (VCO). Minyak kelapa murni adalah minyak nabati yang dihasilkan dari daging buah kelapa segar yang proses pengolahannya tidak melalui proses kimiawi dan tidak menggunakan pemanasan tinggi, sehingga karakteristik minyak yang dihasilkan berwarna bening (jernih) serta beraroma khas kelapa (Pontoh & Buyung, 2011) & (Azevedo, et al., 2020).

Minyak kelapa murni atau *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki khasiat sebagai antioksidan dan VCO menarik perhatian para peneliti karena diyakini berkhasiat untuk kesehatan diantaranya menurunkan resiko kanker, membantu mencegah infeksi virus, mendukung sistem kekebalan tubuh, membantu kulit tetap lembut dan halus. Menurut (Marina, Che man, Nazimah, & Amin, 2009) & (Parinduri, Harahap, & Antoni, 2020) bahwa dengan mengkonsumsi 2 sendok makan VCO dapat mengurangi konsentrasi Low Density lipoprotein (LDL) dan meningkatkan High Density Lipoprotein (HDL) selain itu kandungan polifenol yang terdapat pada VCO mampu mengurangi kandungan peroksidasi lipid dan mampu mengurangi tingkat kolesterol. Menurut penelitian (Dewi & Aryadi, 2010) & (Handajani, Roosihermiatie, & Maryani, 2010) VCO mampu mengatasi berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes militus, obesitas, kolesterol, jantung, dan osteoporosis. VCO juga mampu membasmi penyakit yang disebabkan oleh jamur dan mikroba seperti HIV, hepatitis, herpes, influenza, bakteri gram negatif dan candida penyebab keputihan. Penyakit tersebut dapat disebabkan karena aktifitas fisik berlebihan, tingkat stress yang tinggi, faktor usia, obesitas dan lain – lain.

Aktifitas fisik yang berlebihan tidak baik bagi tubuh dikarenakan dapat meningkatkan *oksidatif stress*, menyebabkan ketidak seimbangan antar sistem

oksidasi tubuh dan enzim antioksidan, karenanya radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan pada bagian tubuh seperti sel protein, DNA, dan membran sel dengan mencuri elektronnya yang melalui proses oksidasi. Aktivitas fisik meliputi aktivitas – aktivitas fisik sehari – hari pada umumnya seperti aktivitas di tempat kerja maupun dirumah dan aktivitas fisik yang termasuk maupun tidak dalam cabang olahraga tertentu. Pengaruh aktivitas fisik terbagi atas respon akut dan respon kronik. Aktivitas fisik secara akut dapat meningkatkan pembentuk radikal bebas sehingga meningkatkan stress oksidatif dalam tubuh. Aktivitas fisik secara kronik (teratur) dapat meningkatkan kapasitas antioksidan endogen sehingga menurunkan stress oksidatif dalam tubuh (Sinaga, Harahap, Silalahi, & Sipahutar, 2020). Agar dapat terhindar dari bahaya nya radikal bebas diperlukan suatu sistem yang dikenal dengan antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*elektronik donor*) yang dapat mengurangi dampak negatif dari radikal bebas, dapat mencegah, dan memperlambat proses oksidasi lipid. Enzim – enzim dan protein pengikat logam termasuk senyawa antioksidan (Yuslianti, 2018). Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi 2, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah enzim – enzim yang bersifat antioksidan, seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), *katalase* (Cat), dan *glutathione perioksidase* (Gpx). Sedangkan antioksidan eksogen adalah yang didapat dari luar tubuh atau makanan. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai macam bahan aktifnya seperti vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, flavonoid, statin, niasin (Werdhasari, 2014). Salah satu bahan alam yang dikembangkan sebagai antioksidan adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang dihasilkan dari olahan buah kelapa yang dimana komponen kimia dari *Virgin Coconut Oil* mengandung senyawa – senyawa asam lemak tak jenuh, asam lemak jenuh, sterol, Vitamin E, dan fraksi polifenol (asam fenolat) yang dimana senyawa – senyawa tersebut berkontribusi sebagai antioksidan. Serta pengujian aktivitas antioksidan VCO secara *in vitro* dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) didapatkan hasil IC50 sebesar (17, 19 µg/mL) yang dimana hasil IC50 tersebut tergolong sebagai aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016).

Berdasarkan Uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penulisan dengan judul “ Tinjauan Naratif Uji Aktivitas Antioksidan dari Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) secara *In Vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan diatas, maka rumusan masalah dalam penulisan ini adalah sebagai berikut :

1. Apa saja senyawa kimia yang bersifat antioksidan yang terdapat pada minyak kelapa murni?
2. Apa saja metode pengujian untuk uji aktivitas antioksidan pada minyak kelapa murni?
3. Bagaimana hasil uji aktivitas antioksidan minyak kelapa murni secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang akan dibahas, maka pembahasan ini mempunyai tujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada minyak kelapa murni.
2. Untuk mengetahui apa saja pengujian antioksidan yang dapat dilakukan pada minyak kelapa murni.
3. Untuk mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan minyak kelapa murni secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang telah dijabarkan, maka penulis mengharapkan penelitian yang dilakukan mempunyai manfaat untuk menambah pengetahuan, wawasan, dan informasi kepada masyarakat mengenai khasiat dan efektivitas farmakologis yang terdapat pada minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) secara *in vitro*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan dan Manfaatnya

2.1.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electronic donor*) yang dimana secara biologis antioksidan dapat mengurangi dan mencegah dampak negatif yang akan di timbulkan dari paparan radikal bebas (Yuslianti, 2018). Keseimbangan oksidan dan antioksidan dalam tubuh sangat penting dikarenakan oksidan dan antioksidan berkaitan dengan sistem kerja imunitas tubuh terutama dalam hal menjaga integritas dan fungsi protein sel, membran lipid, dan asam nukleat.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami adalah antioksidan yang terdapat secara alami didalam tubuh sedangkan antioksidan sintetis adalah senyawa yang di sintetiskan secara kimia (Tristantini, Ismawati, Pradana, & Jonathan, 2016). Antioksidan alami diproduksi oleh tubuh manusia untuk mengimbangi produksi radikal bebas. Namun dengan peningkatan produksi radikal bebas yang terbentuk dikarenakan faktor stress dan paparan dari polusi – polusi lingkungan yang ada maka antioksidan dalam tubuh manusia tidak mencukupi sehingga diperlukannya tambahan antioksidan dari luar, baik antioksidan yang di produksi dengan bahan – bahan alami seperti yang bisa didapatkan dari buah – buah dan tumbuh – tumbuhan yang ada atau antioksidan sintetis. Beberapa senyawa kimia dalam tumbuhan dan buah – buahan dapat berkhasiat antioksidan jika berasal dari golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan b-karoten. Antioksidan sintesis seperti BHA (*Butilated Hidroxy Anisol*), BHT (*Butilated Hidroxy Toulena*) dan TBHQ (*Ter-butylhydroquinone*) dapat sangat efektif untuk menghambat oksidasi. Namun, jika penggunaan antioksidan sintetis melebihi batas dapat menyebabkan racun dalam tubuh yang bersifat karsiogenik sehingga antioksidan alami lebih aman. Salah satu

tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah *Cocos nucifera* L, yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah minyak hasil dari tumbuhan tersebut yang biasa di sebut VCO (*Virgin coconut oil*) (Aditya, 2016).

2.1.2 Manfaat Antioksidan

Manfaat antioksidan bagi tubuh adalah untuk menjaga integritas dan fungsi kerja imunitas tubuh terutama dalam hal menjaga integritas dan fungsi protein sel, membrane lipid, dan asam nukleat. Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas agar kerusakan sel – sel pada tubuh manusia dapat di cegah (Hani & Milanda, 2016). Antioksidan juga penting untuk mempertahankan mutu produk pangan, kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan antioksidan mampu mencegah penyakit kanker dan tumor, penuan dini dan lain-lain. Dalam bidang industri pangan antioksidan dapat digunakan sebagai pencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan pangan seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya. Antioksidan juga dapat digunakan sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya peroksida lipid pada bahan pangan. Antioksidan juga mampu menurunkan tingkat resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan penyakit degeneratif lainnya. Dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imun tubuh dan menghambat penyakit penuaan (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang relatif tidak stabil yang dimana orbit terluarnya mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Molekul yang kehilangan pasangannya tersebut akan menjadi tidak stabil dan radikal, supaya stabil molekul tersebut berusaha mencari pasangan elektron nya

dengan cara merebut elektron dari molekul lain karena itulah kenapa di sebut dengan radikal bebas atau *reactiv oxygen spesies* (ROS). Dalam tubuh, radikal bebas mampu menjadi senyawa yang sangat reaktif dengan cara mengikat elektron molekul sel tubuh akibat adanya elektron – elektron yang tidak berpasangan. Jika reaksi ini berlangsung secara terus menerus dalam tubuh dapat mengakibatkan berbagai penyakit – penyakit degeneratif. Aksi perebutan molekul tersebut akan menimbulkan reaksi berantai hingga radikal bebas berkembang dengan sangat banyak dan radikal bebas tersebut akan merusak molekul makro pembentukan sel protein, karbohidrat (polisakarida), lemak dan *deoxyribo nucleic acid* (DNA) (Hani & Milanda, 2016).

2.2.2 Sumber Radikal Bebas

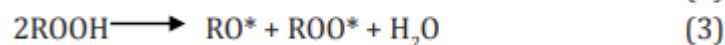
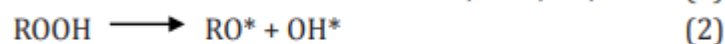
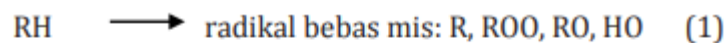
Sumber senyawa radikal bebas ada yang bersifat internal yang berasal dari dalam tubuh dan ada yang bersifat eksternal dari luar tubuh. Radikal bebas internal berasal dari oksigen yang kita hirup yang dimana oksigen tersebut akan menghasilkan banyak energi namun efek samping dari reaksi pembentukan energi tersebut akan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas eksternal dapat berasal dari polusi udara, paparan sinar matahari, racun, asap rokok, radiasi sinar UV, alkohol dan obat – obatan tertentu seperti anestesi, pestisida, sinar X, dan kemoterapi. Radikal bebas eksternal juga bisa dihasilkan dari proses pengolahan makanan, proses pengolahan makanan dengan cara menggoreng, membakar dan memanggang dengan suhu yang terlalu tinggi dapat menimbulkan dampak terbentuk nya juga radikal bebas (Hani & Milanda, 2016) & (Khaira, 2010).

2.2.3 Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan radikal bebas berlangsung terus menerus dalam tubuh manusia melalui metabolisme sel, peradangan, nutrisi maupun radiasi sinar γ , x, UV, bahan kimia pada makanan, obat-obatan dan polusi lingkungan. Biasanya tahapan

pembentukan raksi radikal bebas terjadi melalui 3 tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Labola & Puspita, 2017) & (Sayuti & Yenrina, 2015).

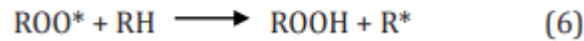
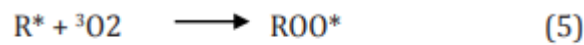
- a. Tahapan inisiasi merupakan tahapan pertama terciptanya spesies radikal yang dimana biasanya nya tahapan ini terbentuk dikarenakan pengaruh beberapa hal seperti, suhu tinggi dan UV. Pada tahap ini radikal bebas terbentuk dari beberapa proses seperti suhu tinggi, proses ekstruksi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer yang menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai yang menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Hidroperoksida ini yang menjadi sumber utama radikal. Penyerapan sinar UV menghasilkan radikal yang disebabkan oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil. Substrat oksidatif dapat bereaksi secara langsung dengan oksigen khususnya pada temperature tinggi sehingga menghasilkan radikal.



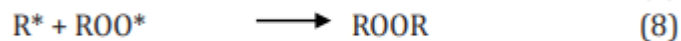
Pada tahapan inisiasi asam lemak(RH) bereaksi dengan oksigen triplet, dan membentuk radikal lemak(R*) dan radikal peroksida (HOO*) dengan inisiator cahaya atau panas.

- b. Tahapan propagasi, merupakan pemanjangan rantai radikal, dimana radikal – radikal bebas akan diubah menjadi radikal yang lainya. Pada tahap ini terjadi oksigenasi radikal lemak (R*) membentuk radikal peroksida (ROO*). Proses oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan aktifitas energy yang hamper mendekati nol, sehinggal konsentrasi (ROO*) yang terbentuk jauh lebih besar. Konsentrasi (R*) dalam sistem makanan, dimana oksidasi berada kemudian radikal peroksida terbentuk, akan bereaksi dengan asam lemak lain dan membentuk hidroperoksida dan radikal baru. Reaksi propagasi dapat terjadi beberapa kali sebelum pemutusan oleh radikal peroksi ke non radikal. Dekomposisi homolitik hidroperoksida dihasilkan oleh reaksi propagasi sehingga meningkatkan tingkat inisiasi oleh produksi radikal. Laju reaksi dari molekul oksigen

radikal alkil membentuk peroksi radikal jauh lebih tinggi jika di banding laju reaksi radikal peroksid dengan atom hydrogen dari substrat.



- c. Tahapan terminasi, reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling beraksi dan menghasilkan suatu spesien non radikal. Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Kombinasi radikal alkil menyebabkan cross-linking yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan berat molekul.



Pada tahap terminasi akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain. Sedangkan hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk alkohol, asam keton dan substrat lain yang lebih stabil.

2.2.4 Efek Radikal Bebas

Terpapar radikal bebas akan banyak menimbulkan efek negatif bagi tubuh yang dimana jika tubuh manusia terpapar radikal bebas terus menerus dapat mengakibatkan terjadinya penyakit – penyakit degeneratif. Peningkatan kelompok radikal bebas dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan pada sel, seperti penyakit pada mata (katarak dan retina), pada pembuluh darah (arteriosclerosis, hipertensi, iskemia, kardiomiopati, gagal jantung), pada multi-organ (kanker, penuaan dini, diabetes, inflamasi dan infeksi), pada otak (Alzheimer, parkinson, hilang ingatan, depresi dan stroke), pada sendi (reumatik dan radang), pada paru-paru (asma dan bronchitis), pada ginjal (glomerulonephritis dan gagal ginjal) dan gangguan pada janin (preeklamsia). Radikal bebas tersebut sumber utamanya berasal dari polusi

– polusi udara yang ada dan beberapa sumber radikal bebas yang lain seperti paparan sinar matahari, racun, rokok, radiasi sinar UV, alkohol dan obat – obatan tertentu seperti anestesi, pestisida, sinar X, dan kemoterapi (Hani & Milanda, 2016) & (Labola & Puspita, 2017).

2.3 Golongan Antioksidan

2.3.1 Antioksidan Alami

Antioksidan alami adalah antioksidan yang terdapat secara alami didalam tubuh . Antioksidan alami lebih sehat dan lebih aman dari pada menggunakan antioksidan sintetis dikarenakan antioksidan alami didapatkan dari bahan – bahan pangan. Beberapa contoh antioksida alami adalah, Vit A, Vit C, Vit E, karotenoid, antosianin, isoflavon, dan selenium (Sayuti & Yenrina, 2015).

Komponen Antioksidan	Bahan Pangan
Vitamin A	Jeruk, mentega, margarin
Vitamin C	Jeruk, kiwi, anggur, pisang, apel, pir, melon.
Vitamin E	Biji Bunga matahari, tomat, susu, kacang – kacangan.
Karotenoid	Wortel, melon, daun hijau, sitrus
Antosianin	Anggur merah, kismis hitam, terong, bawang merah,
Isoflavon	Kacang - kacangan
Selenium	Sereal, daging, ikan

2.3.2 Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti *butylated hydroxy anisol* (BHA), *butylated hydroxy toluene* (BHT), *Ter-butylhydroquinone* (TBHQ), dan ester dari asam galat. Antioksidan sintetik utama memiliki batas penggunaan sebesar 0,02% dari kandungan lemak atau minyak. Antioksidan yang paling cocok untuk minyak nabati adalah TBHQ. BHA dan BHT

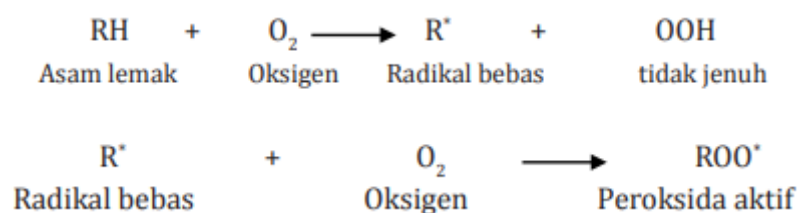
cukup stabil terhadap panas dan sering digunakan untuk stabilisasi lemak dalam proses pemanggangan dan penggorengan produk. Akan tetapi penggunaan dalam jangka panjang akan memberikan efek pada tubuh dan penggunaan bahan alami seperti antioksidan alami lebih sehat dan lebih aman daripada antioksidan sintetis (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan dalam tubuh memiliki mekanisme tertentu dalam aktivitasnya. Tingginya kadar MDA dalam plasma merupakan salah satu indikasi terjadinya aktivitas oksidasi. Mekanisme antioksidan dalam menghambat terjadinya reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 macam mekanisme yaitu :

- Pelepasan hydrogen dari antioksidan
- Pelepasan elektron dari antioksidan
- Adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan
- Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

Prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat oksidasi pada lemak dapat dilihat sebagai berikut:



Oksigen bebas diudara akan mengoksidasikan ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif. Jika dalam suatu asam lemak terdapat minyak yang tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambahkan suatu antioksidan maka peroksida aktif radikal bebas dapat di hentikan.

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan memutuskan reaksi berantainya. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik, mekanisme antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas. Maka akibatnya radikal bebas tidak mampu bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme seperti berikut:

- a. Memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan)
- b. Meregenerasi antioksidan utama
- c. Mendeaktifkan kontaminan logam peroksidan
- d. Menangkap oksigen
- e. Mengikat oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen

Pada antioksidan tersier enzim-enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA tersebut dapat dicirikan dengan rusaknya *Single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-bas (Sayuti & Yenrina, 2015), (Aditya, 2016) & (Khaira, 2010).

2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

2.5.1 Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Metode DPPH adalah sebuah metode yang sederhana dan umum yang biasa digunakan untuk menguji sebuah kemampuan antioksidan yang terkandung dalam suatu makanan atau bahan – bahan lainnya. Metode ini sering digunakan dikarenakan sederhana dan tidak membutuhkan banyak reagen. Metode DPPH prinsipnya dimana elektron ganjil pada molekul DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm yang berwarna ungu. Warna ungu tersebut akan berubah menjadi kuning lemah apabila elektron ganjil tersebut berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan senyawa antioksidan. Pelarut yang biasa digunakan dalam metode DPPH adalah heksana, etanol, metanol,

etil asetat, dan diklorometana. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC50 (*Inhibitor Concentration*). Semakin kecil nilai IC50 yang didapatkan berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

Metode Kerja :

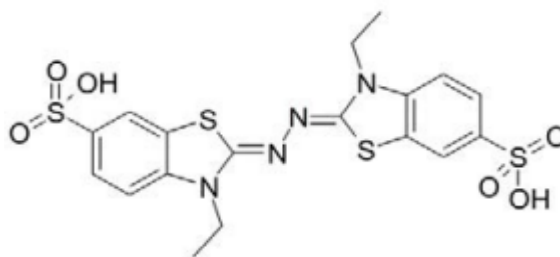
Pertama dilakukan preparasi sampel yang dimana isolat atau ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Kedua, dilakukan pengukuran absorbansi DPPH dengan dilarutkan DPPH sesuai dengan pelarut sampel (Metanol) kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Ketiga, dilakukan pengukuran absorbansi dan sampel yang dimana larutan DPPH ditetesi larutan sampel kemudian ukur kembali absorbansinya. Pada panjang gelombang 517 nm, ukur absorbansinya setiap 5 – 60 menit. Kemudian hitung % peredaman sampel terhadap DPPH dengan rumus yang ada (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016).

2.5.2 Pengujian Antioksidan dengan Metode TBARS (*Thiobutyric Acid Reactive Species*)

Metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*) merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur peroksida lipid dan radikal bebas, sebab metode TBARS cukup sensitif, mudah dikerjakan serta sering digunakan dalam keperluan klinis. TBARS merupakan metode kolorimetri dalam menentukan senyawa *thiobarbituric acid* (TBA) dengan mekanisme penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA-TBA untuk mendeteksi peroksidasi lipid. Pada metode ini, MDA yang terbentuk dari hasil peroksidasi lipid akan beraksi dengan TBA pada suhu tinggi (90-100C). Metode TBARS akan membentuk warna merah muda yang dihasilkan dari reaksi *malondialdehid* (MDA). Metode TBARS ini dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm (Pino, Regalado, Rodriguez, & Fernandez, 2010).

2.5.3 Pengujian Antioksidan dengan Metode TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*)

Uji antioksidan dengan metode TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) merupakan metode uji untuk mengukur jumlah radikal yang dapat ditangkal oleh antioksidan yang dikenal dengan kapasitas antioksidan. Prinsip uji ini mengukur daya peredaman antioksidan terhadap radikal bebas ABTS. Radikal kation ABTS akan bereaksi dengan atom hydrogen dari senyawa peredam radikal bebas dan menjadi ABTS yang stabil. Metode TEAC ini menggunakan senyawa 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) sebagai sumber penghasil radikal bebas. Metode ini menggunakan prinsip inhibis, yaitu sampel ditambahkan pada sistem penghasil radikal bebas dan pengaruh inhibis terhadap efek radikal bebas diukur untuk menentukan total kapasitas antioksidan dari sampel. Kelebihan metode ini adalah dapat digunakan dalam sistem larut berbasis air maupun organik, mempunyai absorbansi spesifik pada panjang gelombang, dan membutuhkan waktu yang lebih sedikit. Serta dalam metode uji TEAC tidak ada intervensi warna saat mengukur sampel berantosanin. Namun metode ini memiliki kelemahan yang dimana radikal ABTS yang digunakan pada metode TEAC tidak ditemukan dan tidak serupa dalam sistem biologis (Li Fu, et al., 2010).

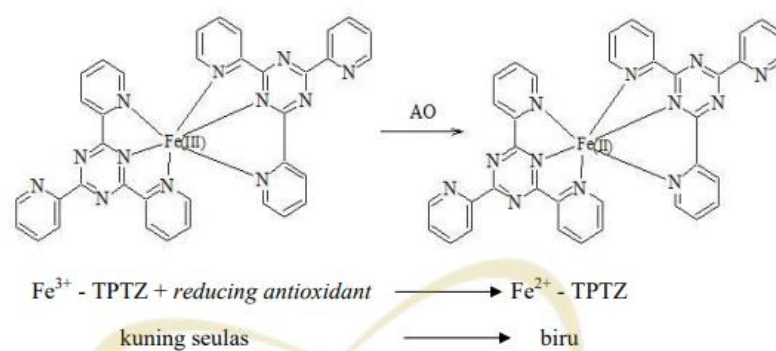


(Struktur ABTS)

2.5.4 Pengujian Antioksidan dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode uji aktivitas antioksidan dengan cara mendonorkan elektronnya yang tidak berpasangan (*single electron transfer*). Pengujian antioksidan dengan metode FRAP dipilih

karena prosedurnya yang sederhana yaitu dengan mengukur berdasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} - TPTZ berwarna kuning menjadi Fe^{2+} - TPTZ berwarna biru. Pereaksi metode FRAP adalah kompleks besi(III)-ligan 2,4,6-tripiridin-triazin ($\text{Fe}(\text{TPTZ})2^{3+}$) berwarna kuning. Senyawa $\text{Fe}(\text{TPTZ}) 2^{3+}$ berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan tereduksi menjadi besi(II)-ligan 2,4,6-tripiridin-triazin ($\text{Fe}(\text{TPTZ}) 2^{2+}$) berwarna biru. Antioksidan akan mereduksi oksidan sehingga terjadi perubahan warna. Nilai aktivitas antikosidannya dapat diketahui dengan membaca absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 593 nm dengan spektrofotometer (Angajchariya, et al., 2017) & (Istiningrum, 2013).



(Reaksi Dalam uji FRAP)

2.6 Jenis-jenis Tanaman Kelapa

Mengenai tanaman *Cocos nucifera*, tanaman ini memiliki banyak spesies seperti berikut Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq), Kelapa hijau (*Cocos viridis*), Kelapa Merah, Kelapa genjah entok, Kelapa Kopyor, Kerdil Fiji, Kelapa Raja, Kelapa pandan wangi, Kelapa gading, Kelapa wulung.

2.7 Deskripsi Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera*)

Cocos nucifera adalah tumbuhan yang paling banyak tumbuh di Indonesia, terutama tumbuh diperkebunan dan pesisir pantai. Tanaman ini banyak ditemukan hampir diseluruh daerah di Indonesia. minyak kelapa murni berkhasiat sebagai salah satu upaya penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi. *Virgin*

Coconut Oil (VCO) minyak kelapa hasil ekstraksi dari *Cocos nucifera* yang menggunakan panas untuk menyebabkan perubahan komposisi ataupun karakteristiknya (Rahmadi, Abdiah, Sukarno, & Purnaningsih, 2013).

2.8 Klasifikasi Ilmiah Kelapa (*Cocos nucifera*)

Klasifikasi ilmiah Kelapa yang dinyatakan oleh :

Kingdom : Plantae
SubKingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermaphyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Subkelas : Arecidae
Ordo : Arecales
Famili : Areaceae
Genus : Cocos
Spesies : *Cocos nucifera*



Gambar 2.1. Bunga Kelapa (*Cocos nucifera*)

Sumber : (Pracaya, 2019)



Gambar 2.3 Buah Kelapa (*Cocos nucifera*)

Sumber : (Pracaya, 2019)



Gambar 2.4 Pohon Kelapa (*Cocos nucifera*)

Sumber : (Pracaya, 2019)

2.9 Morfologi Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera*)

Pohon kelapa dalam bahasa latin disebut *Cocos nucifera* L berasal dari ordo arecales. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah tropis pada ketinggian 0-500 meter di atas permukaan laut dan suhu udara berkisar antara 19-29°C. Pohon *Cocos nucifera* dengan batang tunggal atau kadang bercabang, akar serabut, tebal dan berkayu, berkerumun membentuk bonggol, adaptif pada lahan berpasir pantai. Batang beruas-ruas namun bila sudah tua tidak terlalu tampak, berkayu, dan tipe monokotil. Secara umum daun kelapa tersusun secara majemuk, menyirip sejajar tunggal, pelepah pada tangkai ibu daun pendek, dan warna daun hijau, tangkai daun berwarna kuning kehijauan, Panjang anak daun berkisaran 100-150 cm. Buah besar

diameter 10 cm sampai dengan 20 cm atau bahkan lebih, berwarna kuning, hijau, atau coklat (Damayanti, Siregar, & Hanafiah, 2018)

2.10 Manfaat Tanaman Kelapa (*Cocos nucifera*)

Kelapa (*Cocos nucifera*) adalah salah satu jenis tanaman serba guna dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Seluruh bagian pohon kelapa dapat memberikan manfaat bagi manusia mulai dari akar hingga bagian daun dan tentunya buahnya. Berikut beberapa pemanfaatan pohon kelapa oleh manusia.

1. Bagian akar : Bisa dijadikan sebagai bahan baku pembuatan bir dan zat pewarna
2. Bagian batang : Dimanfaatkan sebagai bahan baku perabotan rumah, mebel, sebagai kayu, ataupun kayu bakar.
3. Bagian daun : Daun kelapa dapat digunakan sebagai bahan pembungkus ataupun dianyam untuk dijadikan atap rumah, sedangkan lidinya biasa digunakan untuk membuat sapu.
4. Bagian bunga : menghasilkan cairan yang dikenal dengan nama air nira yang memiliki rasa manis, bisa dijadikan sebagai bahan baku pembuatan gula nira ataupun sebagai minuman.
5. Bagian buah : Bagian ini terdiri dari kulit (sabut), batok, daging kelapa dan air kelapa. Kulit buah (sabut kelapa) sering digunakan sebagai bahan baku pembuatan keset, batok kelapa bisa dijadikan arang, buah kelapa untuk konsumsi atau diolah untuk dijadikan minyak kelapa, terakhir air kelapa sebagai penghilang dahaga dan juga bermanfaat sebagai tanaman obat untuk meningkatkan kesehatan tubuh.

2.11 Metode Pembuatan Minyak Kelapa Murni (VCO)

2.11.1. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Secara Umum (Setiaji B, 2006)

- a. Kelapa dikupas dengan cara memisahkan daging buah dengan kulit sabut dan tempurungnya.
- b. Setelah kelapa dikupas kelapa lalu diparut menggunakan parutan kelapa atau parutan tradisional.
- c. Parutan kelapa dicampurkan dengan air bersih lalu diperas, dan proses pemerasan ini dilakukan 2 kali. Jadi perasan kelapa yang pertama dilakukan di campurkan air lagi dan diperas, lalu hasil perasan tersebut di saring dan di tampung di wadah yang sudah di siapkan. Proses pemerasan ini sangat penting dilakukan karna jika hasil parutan kelapa terlalu lama di diamkan akan menimbulkan rasa asam dan tidak bisa menghasilkan VCO.
- d. Air hasil perasan tersebut didiamkan sekitar 2 jam sehingga terdapat 2 lapisan. Lapisan atas adalah lapisan kanil (krim) dan lapisan bawah adalah air (skim)
- e. Setelah krim di pisahkan, krim dapat diolah dengan berbagai metode yaitu pemanasan, sentrifugasi, pancingan, penggaraman, fermentasi, dan enzimatis.
- f. Selanjut akan terbentuk tiga lapisan yaitu yang pertama berada paling bawah adalah air, lapisan kedua berada di tengah adalah blondo, dan lapisan ketiga yang paling atas adalah minyak.
- g. Minyak yang berada di lapisan di bagian atas adalah minyak VCO. Maka dari itu minyak tersebut harus di pisahkan dengan cara menggunakan selang kecil yang di sedot dan ditampung dalam wadah yang telah di siapkan
- h. Tahap terkahir agar minyak kelapa murni terhindar dari masuknya bakteri dan agar membuang kadar air maka dilakukan lagi penyaringan.

2.11.2. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Pemanasan (Indriarta, 2019)

- a. Kelapa tua dikupas lalu di ambil daging nya.
- b. Daging kelapa lalu di cuci dan dibersihkan dari kotoran yang melekat.
- c. Daging kelapa lalu di tiriskan agar mengering, lalu Langkah selanjut nya daging kelapa di parut dengan menggunakan parutan biasa atau dengan parutan modern yaitu dengan mesin pamarut kelapa.
- d. Parutan kelapa selanjutnya di tambahkan air secukupnya lalu diremas –remas agar mendapatkan santannya.
- e. Lalu pisahkan air santan dengan ampas santan tersebut.

Santan yang diperoleh didiamkan didalam wadah yang transparan agar santan yang kental dan yang cair dapat terlihat. Santan didiamkan sampai terbagi menjadi 3 lapisan yaitu lapisan krim, skim, dan endapan. Lapisan yang digunakan untuk membuat minyak kelapa adalah lapisan pertama yaitu lapisan krim. Krim di pisahkan dan dikumpulkan dalam tempat yang sudah disediakan. Berikut Langkah – Langkah pemanasan santan :

- a. Masukkan santan atau krim kedalam wadah yang di siapkan
- b. Panaskan santan di atas suhu 100°C - 110°C dan suhu dapat di ukur dengan menggunakan thermometer.
- c. Selama santan di panaskan, aduk santan agar santan tidak pecah.
- d. Masak santan sampai terlihat minyak dan blondo, bila sudah terlihat api dikecilkan agar tidak hangus. Pada tahap ini blondo masih terlihat putih. Setelah minyak dan blondo masak, pisahkan minyak dan api yang digunakan harus tetap menyala kecil.

Minyak yang diperoleh pada proses pertama dipanaskan Kembali supaya benar – benar matang. Pemanasan tersebut juga menggunakan suhu sekitar 100°C - 110°C . Setelah di panaskan Kembali minyak di saring dengan menggunakan kain bersih atau kasa agar minyak yang di peroleh bersih dari blondo. Minyak yang akan di masukan kedalam botol terlebih

dahulu didinginkan untuk menghindari botol menjadi rusak. Agar saat menuangkan minyak kedalam botol tidak tumpah gunakanlah corong yang bersih untuk menuangkan nya.

2.11.3. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Fermentasi (Indriarta, 2019)

- a. Kelapa tua dikupas lalu di ambil daging nya.
- b. Daging kelapa lalu di cuci dan dibersihkan dari kotoran yang melekat.
- c. Daging kelapa lalu di tiriskan agar mengering, lalu Langkah selanjut nya daging kelapa di parut dengan menggunakan parutan biasa atau dengan parutan modern yaitu dengan mesin pamarut kelapa.
- d. Parutan kelapa selanjutnya di tambahkan air secukupnya lalu diremas –remas agar mendapatkan santannya.
- e. Lalu pisahkan air santan dengan ampas santan tersebut.

Santan yang diperoleh lalu didiamkan pada toples transparan selama 1 jam hingga terbentuk krim santan pada bagian atas dan krim pada bagian bawah, lalu pisahkan krim dan santan menggunakan selang. Krim santan yang sudah di pisahkan ditambahkan mikroba starter untuk memulai fermentasinya. Fermentasi selesai ditandai dengan terbentuknya 3 lapisan yaitu lapisan minyak paling atas, lapisan tengah berupa blondo, dan lapisan paling bawah berupa air. Setelah fermentasi selesai dilakukan lah pemisahan untuk memisahkan minyak dari blondo dan air. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan alat sentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kertas saring yang bertujuan untuk memisahkan partikel yang mengikut hingga menjadi minyak VCO yang jernih.

2.11.4. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Enzimatis (Tuti Indah Sari, 2010)

Pembuatan VCO dengan cara enzimatis merupakan pemisahan minyak dalam santan tanpa menggunakan pemanasan. Enzim yang digunakan dapat berupa enzim bromelin (pada nanas), enzim papain (daun pepaya), dan enzim protease (kepiting sungai). Lalu sebagai berikut pembuatan VCO dengan metode enzimatis :

- f. Cuci daging kelapa lalu di haluskan
- g. Campurkan air kedalam hasil parutan dengan perbandingan 10:6
- h. Lalu remas dan saring santan menggunakan kain saring

Santan yang diperoleh ditampung dalam wadah transparan lalu didiamkan selama 1 jam sehingga terbentuknya kanil (krim) pada bagian atas dan krim yang terlarut dalam air pada bagian bawah. Buang air yang berada pada dasar wadah menggunakan selang air, lalu kupas nanas dan parut nanas hingga halus dan dimasukkan kedalam wadah yang telah berisi santan. Campur rata santan dan bahan enzim yang digunakan dengan cara diaduk, setelah itu tutup wadah dan diamkan selama 20 jam. Setelah 20 jam didiamkan akan terbentuknya 3 lapisan yaitu minyak, blondo, dan air, lalu buang air yang berada didasar wadah menggunakan selang. Setelah itu ambil lapisan minyak yang berada di atas dan dilakukan penyaringan dengan beberapa tahap, yaitu dengan kain saring, zeolite, dan kertas saring hingga menghasilkan VCO yang jernih.

2.11.5. Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Pemancingan (Julius Pontoh, 2008)

Proses pengolahan VCO dilakukan dengan memarut kelapa dan memerasnya hingga menjadi santan, kemudian santan tersebut didiamkan selama 2 jam. Selama proses tersebut akan terjadi proses pemisahan antara air dan kanil (bagian yang mengandung minyak) air akan berada di bawah dan kanil akan berada dipermukaan. Kanil kemudian dipisahkan ditempat

yang berbeda. Kemudian lakukan proses pemancingan yang dimana proses ini dilakukan dengan cara mencampurkan 3,5 bagian kanil dengan bagian VCO. Campuran kanil dan VCO kemudian diaduk hingga homogen. Pengadukan ini dilakukan hingga kanil dan VCO tercampur keseluruhan. Setelah proses pengadukan campuran kemudian didiamkan selama 12 jam sampai terbentuk 3 lapisan yaitu minyak, blondo, air. Bagian minyak kemudian di ambil lalu disaring menggunakan batu zeolite.

2.11.6 Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni Metode Penggaraman (Tamzil Aziz, 2017)

Metode penggaraman dilakukan bertujuan untuk memecah sistem emulsi santan dengan pengaturan kelarutan protein didalam garam. Protein didalam santan akan larut dengan adanya penambahan garam, akan tetapi pada kondisi tertentu kelarutan garam akan turun seiring dengan peningkatan konsentrasi garam. Dengan penurunan tingkat kelarutan protein diikuti dengan pengikatan molekul – molekul air oleh garam tersebut, yang akhirnya terjadi pemisahan antara cairan minyak dengan air. Metode penggaraman ini dilakukan dengan menambahkan larutan garam bervalensi 2 contohnya garam $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada krim santan yang diperoleh dari tahap awal pembuatan minyak. Tahapan pembuatan VCO dengan menggunakan metode penggaraman sebagai berikut garam Ca ditambahkan kedalam santan dan diaduk dengan pengaduk magnet agar campuran antara garam dan santan menjadi homogen. Lalu campuran yang sudah di buat tadi didiamkan selama kurang lebih 12 jam untuk mendapatkan 3 lapisan yaitu minyak, blondo, air. Minyak yang dihasilkan dipisahkan dan sedangkan blondo disentrifugasi untuk mengeluarkan minyak yang masih terikat di blondo.

2.12 Kandungan Kimia *Coconut Oil* & *Virgin Coconut Oil*

Komponen - komponen kimia yang terkandung dalam *Virgin Coconut Oil* selain asam lemak jenuh dan tak jenuh ada beberapa komponen kimia lain yang telah diketahui terkandung dalam *Virgin Coconut Oil* adalah sterol, vitamin E dan fraksi polifenol (asam fenolat). Komponen kimia tersebut telah dilaporkan mempunyai aktifitas antioksidan pada berbagai bahan tanaman, produk makanan dan pada sistem biologis (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016).

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan sebuah gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan beberapa peraksi warna. Hal – hal penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksinya. Pada VCO juga dilakukanlah skrining fitokimia dan hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2.12.1

Tabel 2.12.1 Hasil Skrining Fitokimia VCO

Golongan Senyawa	Metode Pengujian	VCO
Saponin	Uji Forth	Negatif
Alkaloid	Uji dengan pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat	Negatif
Fenol	Uji FeCl ₃	Negatif
Flavonoid	Uji Wilson-Taubock	Positif
Tanin	Uji Gelatin	Positif
Steroid / triterpenoid	Uji Lieberman - Bourchard	Negatif

Sumber : (Leliqia, Harta, Saputra, Sari, & Laksmiani, 2020)

Asam lemak yang terkandung dalam CO & VCO tersebut merupakan asam lemak jenuh dan tak jenuh. Komponen kimia yang terdapat pada asam lemak yang terkandung dalam VCO adalah asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek, asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek ini mudah dicerna dan diserap oleh tubuh. VCO mengandung asam lemak yang berfungsi sebagai anti bakteri, anti jamur,

antioksidan dan antiinflamasi (Melati, 2020). Komponen kimia yang terdapat pada Minyak Kelapa (CO) & VCO dapat dilihat pada tabel 2.12.2

Tabel 2.12.2 Kandungan Kimia Coconut Oil & Virgin Coconut Oil

Asam Lemak	Rumus Kimia	Presentase (%) CO	Presentase (%) VCO
Asam Lemak Jenuh			
Asam Kaproat	C3H11COOH	0,0 - 0,8	-
Asam Kaprilat	C7H17COOH	5,5 – 9,5	5 – 10
Asam Kaprat	C9H19COOH	4,5 – 9,5	4 – 5,8
Asam Laurat	C11H23COOH	44,0 – 52,0	41 – 52
Asam Miristat	C13H27COOH	13,0 – 19,0	13 – 19
Asam Palmitat	C15H31COOH	7,5 – 10,5	7,5 – 10,5
Asam Stearat	C17H35COOH	1,0 – 3,0	1 – 3
Asam Arachidat	C19H39COOH	0,0 – 0,4	-
Asam Lemak Tak Jenuh			
As. Palmitoleat	C15H29COOH	0,0 – 1,3	1 - 3
Asam Oleat	C17H33COOH	5,0 – 8,0	5 – 8
Asam Linoleat	C17H31COOH	1,5 – 2,5	1,5 – 2,5

Sumber : (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016), (Kusuma & Putri, 2020), (Sukandar, Hermanto, & Silvia, 2009), (Pontoh & Buyung, 2011) dan (Maulinda, Nasrul, & Nurbaity, 2017)

2.13 Aktivitas Farmakologi Minyak Kelapa Murni (VCO)

1. Aktivitas Farmakologi sebagai Antibiotik

Pada penelitian yang dilakukan (Widiyanti, 2015) mengenai aktivitas antibiotik dari *Virgin Coconut Oil*. VCO bermanfaat sebagai antibiotik alami dikarenakan memiliki kandungan monogliserida dan asam lemak bebas. Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa VCO + seng (Zn) ampuh menekan pertumbuhan bakteri pemicu keputihan seperti *Streptococcus*, *Klebsiella*, dan *Escherichia coli*. Pertumbuhan mereka berturut – turut ditekan 53,6%, 76,2%, 47,2%. Penurunan bakteri tersebut juga diikuti oleh turun nya pH secret vagina dari 6 menjadi 5,1.

2. Aktivitas Farmakologi sebagai Antifungi

Pada penelitian yang dilakukan (Burhannuddin, et al., 2017) bertujuan untuk mengetahui daya hambat VCO terhadap pertumbuhan *Candida albicans* isolat vagina dengan mengobservasi dan menganalisa daya hambat VCO terhadap pertumbuhan *C. Albicans* isolate vagina dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian dengan metode cakram ini didapatkan bahwa VCO mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. Albicans*. VCO dengan konsentrasi 90% memiliki daya hambat tertinggi, dengan nilai zona hambat minimum 24,0 mm, lebih besar dibandingkan VCO dengan konsentrasi 75% (20 mm), 50% (9,7 mm), dan control negative (0,0 mm), namun lebih kecil dari control positif (ketokenazol 2%) yang memiliki zona hambat 34,2 mm. Zona hambat minimum yang di hasilkan VCO menunjukkan bahwa zat aktif VCO pada cakram mampu berdifusi kedalam media. Zat tersebut menghambat pertumbuhan *C. Albicans* yang di tandai dengan adanya zona bening di sekitar cakram.

3. Aktivitas Farmakologi sebagai Penyubur Rambut

Pada Penelitian yang dilakukan (Suhery, Febrina, & Permatasari, 2018) bertujuan untuk memformulasikan dan mendapatkan formula yang terbaik dan stabil secara fisik dan dapat menyuburkan rambut dengan optimal dengan cara memvariasikan kadar VCO dan RBO dalam bentuk mikroemulsi. Desain Formulasi mikroemulsi dibuat menggunakan desain factorial, dengan memvariasikan perbandingan kadar VCO dan RBO. Formula 1, 2 dan 3 (F1, F2, F3) mengandung kombinasi VCO dan RBO masing – masing 1:1, 1:2 dan 2:1 dengan komposisi bahan pembentuk mikroemulsi (surfaktan dan kosurfaktan) yang sama. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa VCO dapat meningkatkan pertumbuhan rambut pada konsentrasi 5%. Pada formula pertama mengandung VCO 7,5% dan RBO 7,5%, formula kedua mengandung VCO 5% dan RBO 10% dan formula ketiga mengandung VCO 10% dan RBO 5%. Dengan ketiga formula ini

dibuat untuk mendapatkan formula terbaik dengan sifat fisik yang stabil dan memberikan aktivitas penyuburan rambut paling optimal. Berdasarkan hasil evaluasi fisik sediaan semua formula 1, 2 dan 3 stabil secara organoleptis selama 8 minggu penyimpanan (tidak terjadinya perubahan bentuk, warna dan bau). pH berkisar antara 6,7 – 7,0, bobot jenis 1,085 – 1,088 g/mL, stabil terhadap perubahan suhu (penyimpanan pada suhu kamar, suhu dingin) serta stabil selama 6 siklus pada uji Freeza and Thaw.

2.14 Kriteria Tingkatan Aktivitas Antioksidan

Kemampuan antioksidan bisa dikategorikan menjadi 4 kategori yaitu antioksidan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, antioksidan kuat dengan nilai 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$, antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} 100 - 150 $\mu\text{g/mL}$, dan antioksidan lemah dengan nilai $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$. aktifitas antioksidan yang paling kuat ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} yang terkecil (Ni Putu Eka, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Enny Yusuf, 2018) Virgin Coconut Oil digolongkan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibanding minyak wijen dan buah merah.

2.15 Potensi Aktivitas Antioksidan VCO

Review tinjauan potensi daya antioksidan VCO dalam dua dekade terakhir menunjukkan nilai IC_{50} VCO bervariasi, yakni dengan metode DPPH dalam kisaran (17 – 1660 ppm) dan dengan metode FRAP dalam kisaran (1,36 – 3,1 ppm). Rentangan variasi nilai IC_{50} VCO yang sangat lebar ini dipengaruhi oleh faktor-faktor proses penyiapan, pelarut ekstrak yang digunakan, komponen kimia bersifat antioksidan yang terkandung dalam produk VCO dan metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan.

Menurut penelitian yang dilakukan (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016) VCO yang disiapkan dari kelapa segar berumur 11-13 bulan dan kelapa disimpan selama 1-4 minggu di tempat kering pada suhu ruangan (25-28°C) sebelum

digunakan. Metode ekstrak VCO yang digunakan adalah dengan menggunakan metode ekstrak pemanasan dan fermentasi yang dimana kelapa yang sudah di parut di ambil santan nya dan didiamkan selama 30 menit lalu santan yang di peroleh di bagi dua masing – masing sebanyak 325 mL. VCO dengan metode ekstrak pemanasan diperoleh dengan cara santan yang telah di dihasilkan dipanaskan dengan suhu 130°C selama 30 menit. VCO dengan metode ekstrak fermentasi diperoleh dengan penambahan ragi kepada santan yang sudah dihasilkan lalu di diamkan selama semalaman. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada VCO ekstrak pemanasan dan ekstrak fermentasi dengan menggunakan metode DPPH. Hasil yang didapatkan dari 2 macam ekstrak VCO Pemanasan dan VCO Fermentasi menunjukkan hasil IC50 sebesar (17,19 µg/mL) pada VCO Pemanasan dan (20,89 µg/mL) pada VCO Fermentasi. Hasil ini menunjukkan bahwa VCO pemanasan lebih potensial dibandingkan dengan VCO fermentasi.

Pada penelitian yang dilakukan (Adaji, Ameh, Usman, Jacob, & Onoja, 2020) VCO dibuat dari kelapa yang diperoleh atau dijual di pasar lokal di nigeria. Kelapa yang telah di peroleh dilakukan proses untuk menghasilkan santan dengan cara daging kelapa segar diparut dan diremas – remas agar menghasilkan santan. Santan yang dihasilkan di campurkan dengan air hangat lalu di saring dengan bahan saringan untuk memisahkan santan dari sekam dan proses ini dilakukan berulang kali hingga santan benar – benar bersih. Santan lalu di diamkan dalam wadah tertutup selama 24 jam pada suhu kamar, sampai membentuk lapisan yang mengandung minyak dan sekam. Sempel yang sudah di diamkan selama 24 jam lalu dipanaskan selama 1 jam dengan suhu 40°C dan menghasilkan minyak mentah dan beberapa residu. Minyak yang dihasilkan dilakukan penyaringan dengan menggunakan bahan saring. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Setelah dilakukan pengujian tersebut didapatkan nilai hasil IC50 VCO sebesar (22.0 µg/mL) dan sebagai pembanding dilakukan juga uji dengan menggunakan vitamin C dan didapatkan hasil IC50 (1,19 µg/mL).

Pada penelitian yang dilakukan (Marina, Che man, Nazimah, & Amin, 2009) VCO dibuat dari kelapa yang dijual di pasar lokal di slangor. Kelapa yang diperoleh dilakukan proses untuk menghasilkan santan dengan cara kelapa di parut

dan diperas menggunakan kain keju untuk mendapatkan santannya. Lalu santan yang di peroleh didinginkan selama 48 jam dan kemudian dipanaskan dengan suhu 50°C dalam oven selama 2 jam. Krim kelapa mengalami sentrifugasi pada 3.500 rpm untuk memisahkan minyak dan krimnya. Minyak yang telah didapat akan digunakan dengan metode fermentasi yang dimana santan didiamkan pada suhu kamar selama 12 jam. Dalam ekstrak fermentasi santan dibiarkan semalaman, karena perbedaan masa jenis, minyak akan mengendap di lapisan atas dan dipisahkan dari fase air. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Setelah dilakukan pengujian tersebut didapatkan hasil IC50 VCO dengan metode ekstrak fermentasi sebesar (1240 µg/mL) dan VCO dengan metode ekstrak sentrifugasi (1660 µg/mL).

Pada penelitian yang dilakukan (Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020) kelapa yang telah di parut dicampurkan dengan air dan di peras hingga menghasilkan santan. Santan yang dihasilkan diekstrak menggunakan metode fermentasi dan pemanasan. Pada metode fermentasi santan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 45°C dan pada metode pemanasan santan di panaskan dengan cara direbus pada suhu 100°C, sampai minyak benar – benar terpisah. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan FRAP. Setelah dilakukan pengujian DPPH didapatkan hasil IC50 ekstrak VCO fermentasi sebesar 46,6 µg/mL dan didapatkan hasil ekstrak VCO pemanasan sebesar 20,5 µg/mL. demikian juga di dapatkan hasil uji FRAP pada VCO fermentasi sebesar 3,10 µg/mL dan VCO pemanasan sebesar 1,46 µg/mL.

Pada penelitian yang dilakukan (Khalil, Salama, Al-Mokaddem, Aljuaydi, & Edris, 2020) daging kelapa yang di ekspor dari Malaysia dilakukan penyaringan agar mendapatkan santan nya, lalu didiamkan semalaman. Setelah didiamkan semalaman pisahkan minyak dari sedimen halus dan disimpan dalam suhu 40°C. lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Dipatkan hasil uji DPPH dengan nilai IC50 sebesar 53,71 µg/mL dan dibandingkan dengan asam askorbat (vit C) yang merupakan senyawa antioksidan standar didapatkan hasil IC50 sebesar 5,53 µg/mL.

Pada penelitian yang dilakukan (Rasyid, 2018) minyak kelapa adalah minyak yang dihasilkan dari ekstrak daging kelapa dengan bermacam – macam ekstrak seperti pembuatan minyak kelapa dengan ekstrak fermentasi, sentrifugasi, dan pemanasan. Sampel yang digunakan pada uji ini adalah minyak kelapa tradisional (CO), VCO komersil, VCO BAL. pengujian dilakukan dengan pengujian antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan optimal nya kemampuan antioksidan ditentukan dengan besaran nilai IC50. Nilai hasil dari ketiga sampel tersebut terendah adalah VCO BAL yaitu dengan nilai 187.824 ppm. Uji ini bertujuan untuk menguji antioksidan yang terdapat pada VCO BAL.

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

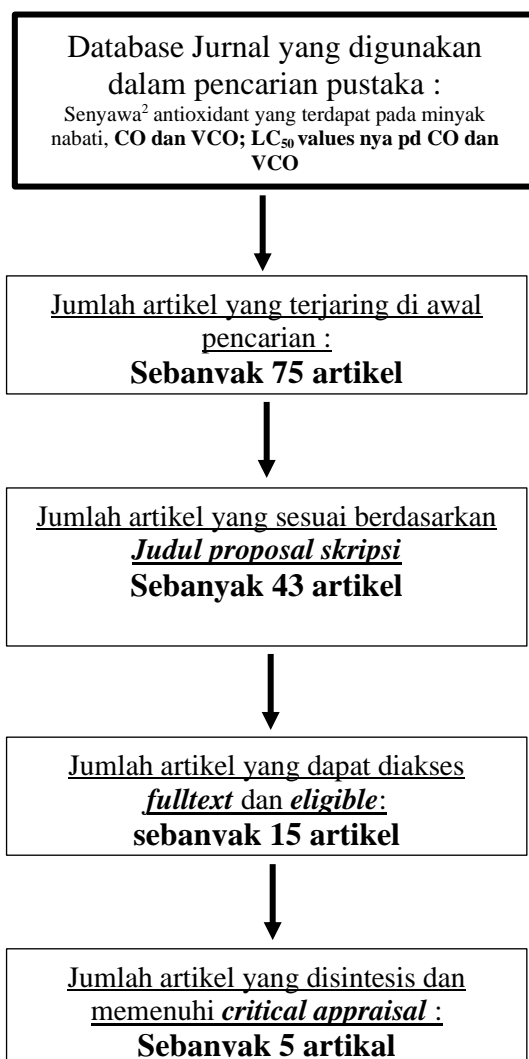
3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan metode studi literatur. Data-data diperoleh dari Jurnal ilmiah yang didapatkan dari *Google Scholar*, *Science Direct*, dan *Researchgate* yang berbahasa Indonesia dan Inggris yang telah terakreditasi oleh RISTEKDIKTI dan terindeks SCOPUS.

3.2 Cara Pengambilan Data

Data diperoleh dari jurnal – jurnal ilmiah nasional maupun internasional yang terakreditasi oleh RISTEKDIKTI (<https://sinta.ristekbrin.go.id/>) dan terindeks SCOPUS (<https://www.scimagojr.com/>). Jurnal ilmiah yang didapatkan berasal dari *Google Scholar*, *Science Direct*, dan *Researchgate* yang berbahasa Indonesia dan Inggris. Pencarian dan penelusuran jurnal ilmiah didapat dengan menggunakan kata kunci seperti “ Antioksidan” , “Minyak Kelapa Murni“ , “ *Virgin Coconut Oil (VCO)*“ , “*In Vitro*“, sebagaimana yang diperlihatkan pada skema penelusuran jurnal berikut.

3.3 Skema Penelusuran Jurnal.



3.4 Kriteria

3.4.1 Inklusi

1. Spesies Tanaman yang diteliti

Kelapa (*Cocos Nucifera*)

2. Efikasi yang diteliti

Aktivitas Antioksidan Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) Secara *In Vitro*.

3. Eksperimen yang diteliti

Uji In Vitro aktivitas antioksidan Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*) dari tanaman kelapa (*Cocos nucifera*).

4. Tahun Jurnal yang digunakan

Jurnal 20 tahun terakhir 2000-2020.

5. Sumber jurnal yang digunakan

Jurnal ilmiah yang didapatkan dari *Google Scholar*, *ReaserchGate*, dan *Science Direct*, yang berbahasa Indonesia dan Inggris.

6. Akreditasi Jurnal yang digunakan

Jurnal terakreditasi oleh ristekdikti (<https://sinta.ristekbrin.go.id/>) terindeks scopus (scimagojr.com).

3.4.2 Eklusi**1. Efikasi yang tidak diteliti**

Aktivitas antibiotik, aktivitas antidiabetes, aktivitas antifungi, aktivitas antibakteri, aktivitas penyubur rambut, aktivitas antiinflamasi, aktivitas antimikroba.

2. Eksperimen yang tidak diteliti

Selain antioksidan

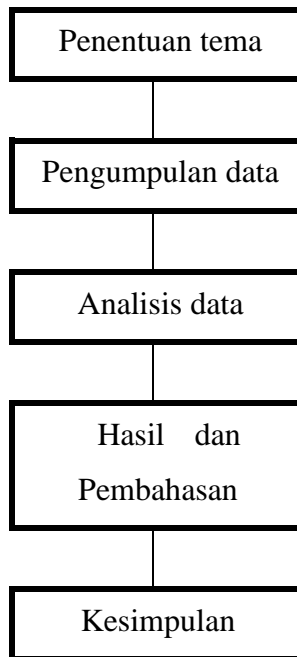
3. Sumber jurnal yang tidak digunakan

Jurnal ilmiah yang tidak berbahasa Indonesia dan Bahasa Inggris

4. Akreditasi Jurnal yang tidak digunakan

Jurnal yang tidak terakreditasi oleh ristekdikti (<https://sinta.ristekbrin.go.id/>) terindeks scopus (scimagojr.com).

3.5 Skema Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Sesuai metodologi yang saya gunakan secara *In Vitro*, maka didapatkan uraian hasil penelusuran literatur dalam bentuk jurnal yang saya dapatkan dari *Science Direct*, *Google Scholar*, dan *Research Gate* yang terkait kandungan senyawa antioksidan dari *Virgin Coconut Oil*.

4.1 Senyawa *Virgin Coconut Oil* yang berperan sebagai antioksidan

Antioksidan mampu menangani serangan – serangan dari radikal bebas, Sehingga *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Penelitian pada VCO tidak dapat dilakukan uji secara langsung di karenakan VCO memiliki kandungan berbagai asam lemak dalam jumlah yang sangat banyak. Berdasarkan hal tersebut pada pengujian ini dilakukan skrining fitokimia terlebih dahulu. Berikut hasil skrining fitokimia VCO.

Tabel 4.1.1 Hasil Skrining Fitokimia Virgin Coconut Oil

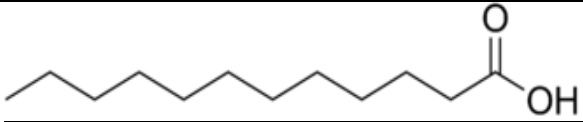
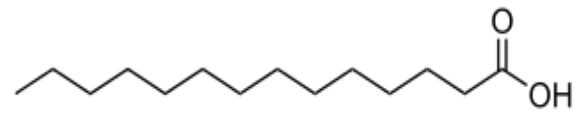
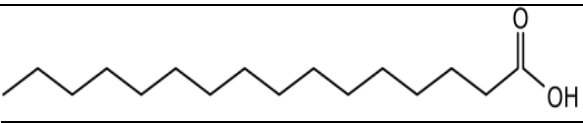
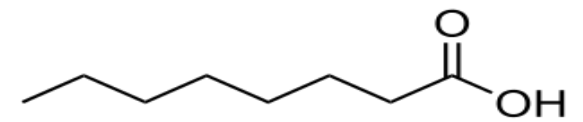
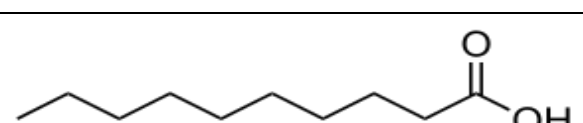

Golongan Senyawa	Metode Pengujian	VCO
Saponin	Uji Forth	Negatif
Alkaloid	Uji dengan pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat	Negatif
Fenol	Uji FeCl ₃	Negatif
Flavonoid	Uji Wilson-Taubock	Positif
Tanin	Uji Gelatin	Positif
Steroid / triterpenoid	Uji Lieberman - Bourchard	Negatif

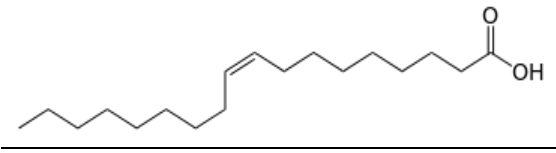
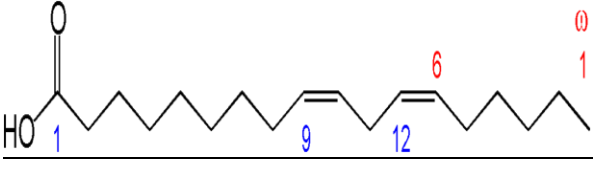
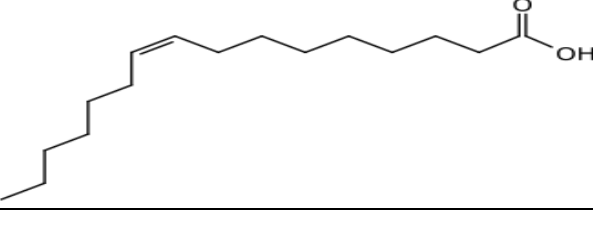
Sumber : (Leliqia, Harta, Saputra, Sari, & Laksmiani, 2020)

Proses tersebut dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol 60%, n-heksana dikategorikan pelarut non polar sedangkan metanol 60% dikategorikan sebagai pelarut polar. Proses tersebut memisahkan senyawa – senyawa yang berada dalam VCO berdasarkan tingkat kepolarannya. Senyawa

nonpolar akan ditarik dalam fraksi n-heksana sedangkan senyawa yang bersifat polar akan ditarik kedalam fraksi metanol. Fraksi metanol yang didapatkan berupa serbuk kering sedangkan fraksi n-heksana berbentuk cair, hal ini dikarenakan fraksi n-heksana lebih banyak mengandung lemak tak jenuh dalam jumlah besar. Pada hasil pengamatan yang di dapat pada skrining fitokimia *Virgin Coconut Oil*, *Virgin Coconut Oil* positif mengandung flavonoid dan tanin.. Berikut adalah senyawa – senyawa asam lemak yang terkandung dalam *Virgin Coconut Oil*.

Tabel 4.1.2 Senyawa Virgin Coconut Oil yang berperan sebagai antioksidan.

Asam Lemak	Struktur Kimia	Sumber
ASAM LEMAK JENUH		
Asam laurat		(Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016
Asam miristat		
Asam palmitat		
Asam kaprilat		
Asam Kaprat		
Asam stearat		
ASAM LEMAK TIDAK JENUH		

Asam oleat		(Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016
Asam linoleat		
Asam palmitoleat		

Adanya komponen – komponen kimia *Virgin Coconut Oil* seperti lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh komponen – komponen tersebut telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan pada berbagai makanan. Selain asam – asam lemak tersebut ada beberapa komponen kimia lain yang diketahui ada dalam *Virgin Coconut Oil* adalah sterol, vitamin E dan fraksi polifenol (asam fenolat) komponen – komponen tersebut pula dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan pada berbagai makanan. Dengan hasil skrining fitokimia yang dilakukan terhadap *Virgin Coconut Oil* juga didapatkan hasil positif mengandung flavonoid dan tanin. Flavonoid dan tanin tersebut juga lah yang berperan sebagai antioksidan dalam *Virgin Coconut Oil*.

4.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Berdasarkan tinjauan literatur yang saya gunakan didapatkan potensi daya antioksidan VCO diperoleh nilai IC50 bervariasi, diuji dengan metode DPPH dan dengan metode FRAP masing – masing dengan kisaran (17-1660 ppm) dan (1,36-3,1 ppm). Faktor – faktor yang mempengaruhi hasil yang di dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi VCO, pelarut ekstrak yang digunakan, komponen dan metode uji aktivitas yang di gunakan. Berdasarkan hasil pengujian antioksidan dengan metode DPPH diperoleh uji aktivitas antioksidan terhadap VCO tergolong kategori

antioksidan yang kuat dan berdasarkan hasil pengujian dengan metode FRAP diperoleh hasil yang lebih baik terhadap VCO ekstrak pemanasan.

Dari percobaan yang dilakukan maka didapatkan data-data untuk pengolahan sehingga data dapat dianalisis. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan nilai IC50 aktivitas antioksidan masing-masing sampel. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dapat dilihat pada tabel 4.2.1

Tabel 4.2.1 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Pembuatan Minyak VCO	Pelarut	IC50 $\mu\text{g/mL}$	Pustaka
VCO Pemanasan	Metanol	22	(Adaji, Ameh, Usman, Jacob, & Onoja, 2020)
VCO Fermentasi	Metanol	1240	(Marina, Che man, Nazimah, & Amin, 2009)
VCO Sentrifugasi		1660	
VCO Fermentasi	Metanol	20,89	(Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016)
VCO Pemanasan		17,19	
VCO Pemanasan	Metanol	20,5	(Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020)
VCO Fermentasi		46,6	
VCO Fermentasi	Metanol	53,71	(Khalil, Salama, Al-Mokaddem, Aljuaydi, & Edris, 2020)

Kemampuan antioksidan bisa dikategorikan menjadi 4 kategori yaitu antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 <50 $\mu\text{g/mL}$, antioksidan kuat dengan nilai 50-100 $\mu\text{g/mL}$, antioksidan sedang dengan nilai IC50 100-150 $\mu\text{g/mL}$, dan antioksidan lemah dengan nilai IC50 >150 $\mu\text{g/mL}$. Aktifitas antioksidan yang paling kuat ditentukan berdasarkan nilai IC50 yang terkecil (Leliqia, Harta, Saputra, Sari, & Laksmiani, 2020).

Daya antioksidan (IC50) yang tergolong dalam kategori sangat kuat dengan hasil nilai IC50 sebesar (17,9 – 46,6 $\mu\text{g/mL}$) dilaporkan oleh (Pulung, Yogaswara,

& Sianipar, 2016), (Adaji, Ameh, Usman, Jacob, & Onoja, 2020), dan (Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020). Pada penelitian (Pulung, Yogaswara, & Sianipar, 2016) kelapa yang akan digunakan kelapa segar yang berumur 11-13 bulan dan diletakkan pada ruangan yang kering dengan suhu ruang (25-28°C) selama 1-4 minggu, lalu kelapa yang ingin digunakan diparut dan di ambil santannya. Lalu didiamkan selama 30 menit sehingga diperoleh krim santan sebanyak 750 mL, dimana 325 mL krim santan tersebut dipanaskan pada suhu 130°C selama 30 menit untuk menghasilkan VCO Pemanasan dan sebagiannya lagi difermentasi dengan menggunakan fermipan 10% (ragi yang telah dikomersilkan) selama semalaman sehingga diperoleh VCO Fermentasi. Banyaknya minyak VCO yang di peroleh oleh 2 macam ekstrak tersebut masing-masing adalah 50 dan 50 mL. Lalu di lakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Pada sampel dibuat dengan konsentrasi 60;70;80;90;100 µg/mL lalu di tambahkan dengan DPPH 90 µM dalam metanol 95%, dibiarkan pada suhu ruang selama 30 menit dan dihitung absorbansi nya pada 517 nm. Hasil yang didapatkan pada uji tersebut pada 2 macam ekstrak VCO pemanasan dan fermentasi didapatkan nilai IC50 sebesar (17,19 µg/mL) dan (20,89 µg/mL). senyawa yang terkandung dalam VCO yaitu asam laurat (46,82%), asam kaprilat (6,01%), asam kaprat (7,5%), asam miristat (17,02%), asam palmitat (7,21%), asam palmitoleat (3,11%), asam stearate (5,4%) dan asam linoleat (1,3%).

Pada penelitian yang dilakukan (Adaji, Ameh, Usman, Jacob, & Onoja, 2020) kelapa diproses dengan cara diparut dagingnya dan dilakukan pemerasan agar mendapatkan santan, lalu santan dicampur dengan air hangat dan disaring dan proses ini dilakukan berulang kali agar santan benar – benar bersih. Santan lalu didiamkan didalam wadah tertutup selama 24 jam dengan suhu kamar sampai santan membentuk lapisan minyak dan sekam. Lalu minyak dipisahkan dan dipanaskan selama 1 jam pada suhu 40°C dan menghasilkan minyak mentah. Minyak yang didapatkan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang dimana sampel di buat dengan konsentrasi 25;50;200;400 µg/mL. 1 mL minyak di tambahkan kedalam 1.0 mL larutan DPPH (1mM). campurkan lalu kocok kuat – kuat dan didiamkan pada suhu kamar di tempat gelap

selama 20 menit. Dan hasil absorbansinya di ukur pada 517 nm. Setelah dilakukan pengujian tersebut didapatkan nilai hasil IC₅₀ VCO sebesar (22.0 µg/mL).

Pada penelitian yang dilakukan (Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020) kelapa diproses dengan cara diparut dan diperas hingga menghasilkan santan. Santan yang dihasilkan diekstrak menggunakan metode fermentasi dan pemanasan. Pada metode fermentasi santan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 45°C dan pada metode pemanasan santan dipanaskan dengan cara direbus pada suhu 100°C. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. 0,135 mM DPPH dalam metanol disiapkan dalam botol gelap. Konsentrasi yang berbeda – beda (10-100 µg/mL) lalu dicampurkan dengan larutan yang diinkubasi pada suhu 27°C selama 30 menit dalam gelap. Dan absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada 517nm. Setelah dilakukan pengujian DPPH didapatkan hasil IC₅₀ ekstrak VCO fermentasi sebesar (46,6 µg/mL) dan didapatkan hasil ekstrak VCO pemanasan sebesar (20,5 µg/mL).

Daya antioksidan (IC₅₀) yang tergolong dalam kategori kuat dengan hasil nilai IC₅₀ sebesar (53,71 µg/mL) dilaporkan oleh (Khalil, Salama, Al-Mokaddem, Aljuaydi, & Edris, 2020). Pada penelitian yang dilakukan daging kelapa yang didapatkan melalui proses pamarutan dilakukan pemerasan untuk mendapatkan santannya. Santan yang didapatkan lalu didiamkan semalaman dan setelah minyak dipisahkan dari kandungan lainnya dan disimpan dalam suhu 40°C. lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. 2 mL 0,1 mM DPPH di tambahkan kepada konsentrasi 20,40,60,80 dan 100 µg dan kemudian di tambahkan 1,0 mL metanol. Campur secara menyeluruh dan di simpan di tempat yang gelap selama 30 menit. Control di buat dengan mencampurkan 1,5 mL DPPH dan 1,0 mL metanol. Absorbansi campuran diliata pada 517nm dengan menggunakan spektrofotometer. dipatkan hasil uji DPPH dengan nilai IC₅₀ sebesar (53,71 µg/mL)

Daya antioksidan (IC₅₀) yang tergolong dalam kategori lemah dengan hasil nilai IC₅₀ sebesar (1240 - 1660 µg/mL) dilaporkan oleh (Marina, Che man, Nazimah, & Amin, 2009). Pada penelitian yang dilakukan pembuatan VCO diawali

dengan cara memperoleh santan dari kelapa yang sudah di parut dan di peras. Lalu santan yang di peroleh didinginkan selama 48 jam dan kemudian dipanaskan dengan suhu 50°C dalam oven selama 2 jam, lalu krim kalapa mengalami sentrifugasi pada 3.500 rpm untuk memisahkan minyak dan krimnya. Minyak yang telah didapatkan yang akan digunakan dengan metode fermentasi didiamkan selama 12 jam dalam suhu kamar, karena perbedaan masa jenisnya akan terbentuk 2 lapisan yang dimana minyak akan mengendap di lapisan atas dan dilapisan bawah fase air. Lalu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH pada sampel. Setiap ekstrak minyak (2-10 mg/mL) dicampur dengan 1 mL larutan metanol yang mengandung radikal DPPH (0,2 mM). lalu campuran tersebut dikocok kuat – kuat dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap dan kemudian absorbansinya dibaca pada 517nm. Setelah dilakukan pengujian tersebut didapatkan hasil IC50 VCO ekstrak fermentasi sebesar (1240 µg/mL) dan VCO ekstrak sentrifugasi sebesar (1660 µg/mL)

Nilai IC50 mencerminkan aktivitas antioksidan, semakin kecil nilai IC50 maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Hal ini kemungkinan karena perbedaan pada metode ekstraksi yang dilakukan untuk membuat VCO tersebut. Hal ini lah yang menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan yang didapatkan saat menggunakan proses ekstrak pemanasan yang dilakukan dengan suhu di atas 100°C yang dapat menyebabkan terjadinya penguapan air, penguapan air ini menyebabkan senyawa fenolik yang bersifat antioksidan terdistribusi kelapisan minyak. Dibandingkan dengan proses ekstrak fermentasi maupun sentrifugasi yang hanya menggunakan suhu ruang dan dipanaskan dengan suhu rendah kisaran 40-50°C yang meyebabkan banyaknya kandungan air terakumulasi sehingga senyawa polifenol yang bersifat polar akan banyak terdistribusi kelapisan air dan protein. Inilah yang menyebabkan tingginya aktivitas antioksdain VCO dengan metode pemanasan di banding VCO dengan metode fermentasi ataupun sentrifugasi.

4.3 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Tabel 4.3.1 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Pembuatan Minyak VCO	Reagen	Hasil IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	Pustaka
VCO Fermentasi	Bufer astetat + tripyridiltriaxim (TPTZ) + HCl + FeCl ₃	3,10	(Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020)
VCO Pemanasan		1,46	

Pengujian FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) bertujuan untuk menentukan kapasitas antioksidan yang ada dalam suatu sampel. Uji FRAP ini digunakan dikarenakan prosedur nya yang cukup sederhana, metodenya murah, cepat dan reagen yang digunakan cukup sederhana, mudah di dapatkan serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidannya. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dapat dilihat pada tabel 4.3.1.

Dengan pengujian metode FRAP, Daya antioksidan (IC50) dilaporkan oleh (Narayanankutty, Illam, Rao, Shehabudheen, & Raghavamenon, 2020) tergolong dalam kategori kategori sangat kuat (1,46 - 3,10 PPM) yakni menyamai nilai IC50 vitamin C. pada pengujian yang dilakukan reagen FRAP disiapkan lalu dicampurkan dengan 10 mL buffer asetat (0,3 M), dengan tripyridiltriaxim (TPTZ), HCl (40Nm), dan FeCl₃ (20Mm). Dan Reagen FRAP (3,9 mL) dicampur dengan 100 mL encer polifenol dari VCO (0-5 $\mu\text{g/mL}$) dan diaduk rata. Absorbansi campuran reaksi dibaca pada 593nm terhadap blanko reagen dan efektif konsentrasi (IC50). Didapatkan hasil nilai penurunan IC50 dari percobaan tersebut VCO dengan metode ekstrak fermentasi (3,10 $\mu\text{g/mL}$) dan VCO dengan metode ekstrak pemanasan (1,46 $\mu\text{g/mL}$). dengan hasil sebagai berikut VCO yang menggunakan metode ekstraksi pemanasan memiliki penurunan nilai IC50 yang lebih signifikan dan lebih baik dibandingkan dengan VCO yang di ekstrak menggunakan metode fermentasi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Senyawa yang dapat memberikan efek antioksidan yang terdapat pada *Virgin Coconut Oil* adalah Flavanoid, tannin, dan asam lemak.
2. Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).
3. Review potensial hasil uji antioksidan VCO dari jurnal publikasi penelitian yang di terbitkan 2 dekade terakhir memperlihatkan bahwa VCO menunjukkan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 dengan kategori sangat kuat hingga sangat lemah (17 – 1660 ppm). Rentang kisaran sangat jauh ini dapat dipengaruhi oleh faktor pelarut ekstraksi, metode dan proses penyiapan sediaan VCO, dan metode uji aktivitas antioksidan.

5.2 Saran

Tinjauan naratif selanjutnya disarankan membahas mengenai aktivitas farmakologis lainnya dari *Virgin Coconut Oil* dengan menggunakan metode lainnya dan perlu dilakukan penelitian laboratorium tentang pengaruh perlakuan uji penambahan komponen antioksidan terhadap aktivitas antioksidan produk VCO (komersil).

DAFTAR PUSTAKA

- Adaji, M., Ameh, E., Usman, S., Jacob, A., & Onoja, F. (2020). *Evaluation of Physiochemical, Antioxidant, Proximate and Nutritional Values of Virgin Coconut Oil (Cocos nucifera)*. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*, Vol. 07 Issue 02 175-190.
- Aditya, P. R. (2016). Manfaat Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai Antioksidan. 129-133.
- Angajchariya, A., Naranong, S., Phichairat, D., Kaewsongsang, L., Phupong, W., & Mahae, N. (2017). *Mycelial Growth, Antioxidant and Antibacterial Properties of Boletus Griseipurpureus from South Thailand*. *International Journal of Agricultural Technology* Vol. 13(4), 521-529.
- Azevedo, W. M., Oliveira, L. F., Alcantara, M. A., Magalhaes Cordeiro, A. M., Silva Chaves Damasceno, K. S., Araujo, N. K., Sousa Junior, F. C. (2020). *Physicochemical Characterization, Fatty Acid Profile, Antioxidant Activity and Antibacterial Potential of Cacay Oil, Coconut Oil and Cacay Butter*. *PLoS ONE*, 1-11.
- Aziz, T., Olga, Y., & Sari, A. P. (2017). Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) Dengan Metode Penggaraman. *Jurnal Teknik Kimia* No. 2 Vol. 23, 129-136.
- Burhannuddin, Karta, I., Tresnanda, B., Putra, I., Darmada, I., Pradnyadhita, I., Ariawan, I. (2017). Daya Hambat *Virgin Coconut Oil* Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Isolat Vagina. *Jurnal Analisis Kesehatan* Vol. 6, No. 2, 209-219.
- Damayanti, R., Siregar, L. A., & Hanafiah, D. S. (2018). Karakter Morfologis dan Hubungan Kekerbatan Beberapa Genotipe Kelapa (*Cocos nucifera* L.) di Kecamatan Silau Laut Kabupaten Asahan. *Jurnal Agroekoteknologi* Vol. 6 No. 4, 874-884.

- Dewi, S. S., & Aryadi, T. (2010). Efektivitas *Virgin Coconut Oil* (VCO) Terhadap Kandidiasis Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 39-41.
- Hamid, N., Marina, A., Che Man, Y., & Amin, I. (2009). *Chemical Properties of Virgin Coconut Oil*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 301-307.
- Handajani, A., Roosiermiatie, B., & Maryani, H. (2010). Faktor - Faktor Yang Berhubungan Dengan Pola Kematian Pada Penyakit Degeneratif Di Indonesia. *Bulletin Penelitian Sistem Kesehatan - Vol. 13 No. 1*, 42-53.
- Hani, R. C., & Milanda, T. (2016). Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *Farmaka Vol. 13 No. 1*, 184-190.
- Indriarta, A. (2019). *Tehnik Pembuatan Minyak Kelapa*. Tangerang: LOKA AKSARA.
- Istinigrum, R. B. (2013). *Analysis of Total Antioxidant Capacity on Ingredients of Lotek Menu by Ferric Reducing Antioxidant Power Assay*. *EKSAKTA Vol. 13 No. 1-2*, 40-48.
- Khaira, K. (2010). Menangkal Radikal Bebas Dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek Vol.11 No.2*, 183-187.
- Khalil, H., Salama, H., Al-Mokaddem, A., Aljuaydi, S., & Edris, A. (2020). *Edible Dairy Formula Fortified with Coconut Oil for Neuroprotection Against Aluminium Chloride-induced Alzheimer's Disease in Rats*. *Journal of Functional Foods*.
- Kusuma, M. A., & Putri, N. A. (2020). Review: Asam Lemak *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Manfaatnya Untuk Kesehatan. *Jurnal Agroteknologi dan Agribisnis*, 93-107.
- Labola, Y., & Puspita, D. (2017). Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Majalah Farmasetika, Vol.2 No.2*, 12-17.

- Leliqia, N. E., Harta, I. G., Saputra, A. Y., Sari, P. N., & Laksmiani, N. L. (2020). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Fraksi Metanol *Virgin Coconut Oil* dan Madu Kele Bali dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl). *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 84-96.
- Li Fu, Xu, B.-T., Xu, X.-R., Qin, X.-S., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2010). Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 56 Wild Fruits from South China. *Molecules*, 8602-8617.
- Marina, A., Che man, Y., Nazimah, S., & Amin, I. (2009). Antioxidant Capacity and Phenolic Acids of Virgin Coconut Oil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 114-123.
- Maulinda, L., Nasrul, Z., & Nurbaity. (2017). Hidrolisis Asam Lemak Dari Buah Sawit Sisa Sortiran . *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 6 : 2, 1-15.
- Narayanankutty, A., Illam, S. P., Rao, V., Shehabudheen, S., & Raghavamenon, A. (2020). Hot-processed Virgin Coconut Oil Abrogates Cisplatin-induced Nephrotoxicity by Restoring Redox Balance in Rats Compared to Fermentation-Processed Virgin Coconut Oil. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-10.
- Parinduri, L., Harahap, B., & Antoni. (2020). Pelatihan Pembuatan Virgin Coconut Oil Bagi Warga Desa Sei Nagalawan. *Buletin Utama Teknik Vol. 15. No. 2*, 202-206.
- Pino, J., Regalado, E., Rodriguez, J., & Fernandez, M. (2010). Phytochemical Analysis and In Vitro Free-Radical-Scavenging Activities of the Essential Oil from Leaf and Fruit of *Melaleuca leucadendra* L. *Chemistry & Biodiversity*, Vol. 7, 2281-2288.
- Pontoh, J., & Buyung, N. (2011). Analisa Asam Lemak Dalam Minyak Kelapa Murni (VCO) Dengan Dua Peralatan Kromatografi Gas. *Jurnal Ilmiah Sains*, Vol. 11 No.2, 274-281.
- Pontoh, J., Surbakti, M., & Papilaya, M. (2008). Kualitas Virgin Coconut Oil Dari Beberapa Metode Pembuatan. *Chem. Prog. Vol. 1 No. 1*, 60-65.

- Pratama, M. T., Andrianto, D., & Rasyid, L. (2018). Kuantifikasi Asam Lemak dan Aktivitas Antioksidan Minyak Kelapa Murni (VCO) Fermentasi *Lactobacillus casei*. *UT-Biochemistry*.
- Pracaya, P. (2019). *Budi Daya Kelapa*. Jakarta Barat: PT Sunda Kelapa Pustaka.
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4290-4302.
- Pulung, M. L., Yogaswara, R., & Sianipar, F. D. (2016). Potensi Antioksidan dan Antibakteri Virgin Coconut Oil dari Tanaman Kelapa Asal Papua. *Chem. Prog. Vol. 9. No. 2*, 63-69.
- Rahmadi, A., Abdiah, I., Sukarno, M. D., & Purnaningsih, T. (2013). Karakteristik Fisikokimia dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat. *J.Teknol. dan Industria Pangan Vol. 24 No. 2*, 178-183.
- Sari, T. I., Herdiana, E., & Amelia, T. (2010). Pembuatan VCO Dengan Metode Enzimatis dan Konversinya Menjadi Sabun Padat Transparan. *Jurnal Teknik Kimia, No. 3, Vol. 17*, 50-58.
- Setiaji B, S. P. (2006). *Membuat VCO berkualitas tinggi*. Penebar Swadana, Jakarta.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan, Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, 1-97.
- Sinaga, F., Harahap, U., Silalahi, J., & Sipahutar, H. (2020). Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Virgin Coconut Oil at Maximum Physical Activity. *Social Sciences, Education and Humanities, Vol. 5*, 171-178.
- Suhery, W. N., Febrina, M., & Permatasari, I. (2018). Formulasi Mikroemulsi dari Kombinasi Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) dan Minyak Dedak Padi (Rice Bran Oil) Sebagai Penyubur Rambut. *Traditional Medicine Journal, 23(1)*, 40-46.

- Sukandar, D., Hermanto, S., & Silvia, E. (2009). Sifat Fisiko Kimia dan Aktivitas Antioksidan Minyak Kelapa Murni (VCO) Hasil Fermentasi *Rhizopus Orizae*. *JKTI. Vol 11 No. 2*, 7-14.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, G1-1.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, Vol. 3, 59-68.
- Widiyanti, R. A. (2015). Pemanfaatan Kelapa Menjadi VCO (*Virgin Coconut Oil*) Sebagai Antibiotik Kesehatan Dalam Upaya Mendukung Visi Indonesia Sehat 2015. 577-584.
- Yuniwarti, E. W., Saraswati, T. R., & Kusdiyantini, E. (2018). Aktivitas Antioksidan Berbagai Minyak Edible Menggunakan Metode DPPH. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* Vol.3 No. 1, 85-88.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: CV BUDI UTAMA..

LAMPIRAN

Hot-processed virgin coconut oil abrogates cisplatin-induced nephrotoxicity by restoring redox balance in rats compared to fermentation processed virgin coconut oil

The image shows two screenshots of web pages. The top screenshot is a Google Scholar search result for the article "Hot processed virgin coconut oil abrogates cisplatin induced nephrotoxicity by restoring redox balance in rats compared to fermentation-processed virgin coconut oil" by A Narayanankutty, SP, IJlam, V Rao, et al. The search criteria are visible in the browser's address bar. The article details include the journal "Drug and Chemical Toxicology", year 2020, and publisher Taylor & Francis. The abstract mentions that Virgin coconut oil (VCO) is a functional food oil prepared from fresh coconut kernel either by hot-processed (HPVCO) or fermentation-processed (FPVCO). The FPVCO has been widely explored for its pharmacological efficacy, while HPVCO, which has traditional uses, is less explored. The present study compared the phenolic content and nephroprotective effect of both these oils in male Wistar rats. In vitro antioxidant activity was estimated in terms of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing antioxidant power and ...

The bottom screenshot is a ScimagoJR journal search page for "Drug and Chemical Toxicology". The search results show the journal is from the United States, published by Informa Healthcare, and categorized under Chemical Engineering, Environmental Science, Medicine, and Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics.

Edible dairy formula fortified with coconut oil for neuroprotection against aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats

The screenshot shows a Google Scholar search result. The search query is "Edible dairy formula fortified with coconut oil for neuroprotection against alum". The article title is "Edible dairy formula fortified with coconut oil for neuroprotection against aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats" by HMA Kha, HH Salama, and AK Al-Mokaddam, published in the Journal of Functional Foods in 2020. The abstract states: "This study investigates the potential protective effects of a dairy formula fortified with virgin coconut oil (VCO) against aluminium chloride (AlCl₃)-induced Alzheimer. Forty-two Wistar rats were allocated into seven groups which received the fortified formula, VCO, the standard drug (rivastigmine), AlCl₃ and a combination of these variants with AlCl₃. Different chemical, biochemical, behavioral and histopathological and immunohistochemical evaluations were conducted in this study. Results showed that VCO contains 61.0% medium ...". The article is available as a PDF and HTML document on sciencedirect.com. The interface includes filters for "Kapan saja" (Since 2022, 2021, 2018), "Urutkan menurut" (Sort by relevance, date), and "Semua jenis" (All types: articles, reviews). There are also options to "sertakan paten" (include patents) and "mencakup kutipan" (include citations).

The screenshot shows the journal page for "Journal of Functional Foods" on Scimagojr.com. The journal is published by Elsevier Ltd. The subject area is "Agricultural and Biological Sciences" with sub-categories: "Food Science", "Medicine (miscellaneous)", "Nursing", and "Nutrition and Dietetics". The H-index is 84, and the ISSN is 17564646. The journal is published in the United Kingdom. A cookie notice at the bottom states: "This website uses cookies to ensure you get the best experience on our website. Waiting for code.createjs.com... Got it!"

COUNTRY	SUBJECT AREA AND CATEGORY	PUBLISHER
United Kingdom	Agricultural and Biological Sciences └ Food Science Medicine └ Medicine (miscellaneous) Nursing └ Nutrition and Dietetics	Elsevier Ltd.
H-INDEX	PUBLICATION TYPE	ISSN
84	Journals	17564646

Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil

The screenshot shows a Google Scholar search result for the article "Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil" by AM Marina, YB Che Man, and SAH Nazimah. The article is from the International Journal of Food Science and Nutrition, published in 2009 by Taylor & Francis. The abstract states that the antioxidant properties of virgin coconut oil produced through chilling and fermentation were investigated and compared with refined, bleached, and deodorized coconut oil. The virgin coconut oil showed better antioxidant capacity than the refined, bleached, and deodorized coconut oil. The virgin coconut oil produced through the fermentation method had the strongest scavenging effect on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and the highest antioxidant activity based on the β -carotene-linoleate bleaching method. However, virgin coconut oil ...

Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil
AM Marina, YB Che Man, SAH Nazimah ... - International journal of ... , 2009 - Taylor & Francis
The antioxidant properties of virgin coconut oil produced through chilling and fermentation were investigated and compared with refined, bleached and deodorized coconut oil. Virgin coconut oil showed better antioxidant capacity than refined, bleached and deodorized coconut oil. The virgin coconut oil produced through the fermentation method had the strongest scavenging effect on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and the highest antioxidant activity based on the β -carotene-linoleate bleaching method. However, virgin coconut oil ...
☆ Simpan 99 Kutip Dirujuk 227 kali Artikel terkait 5 versi

Menampilkan hasil terbaik untuk penelusuran ini. Lihat semua hasil

Kapan saja
Sejak 2022
Sejak 2021
Sejak 2018
Rentang khusus...

Urutkan menurut relevansi
Urutkan menurut tanggal

Semua jenis
Artikel kajian

sertakan paten
 mencakup kutipan

Bantuan Privasi Persyaratan

The screenshot shows the journal page for the International Journal of Food Sciences and Nutrition on Scimagojr.com. The journal is published by Informa Healthcare and is categorized under Agricultural and Biological Sciences and Food Science. The H-index is 73, and the ISSN is 09637486, 14653478. The journal is published in the United Kingdom, specifically at Universities and research institutions in the United Kingdom. The publication type is Journals.

International Journal of Food Sciences and Nutrition

COUNTRY	SUBJECT AREA AND CATEGORY	PUBLISHER
United Kingdom Universities and research institutions in United Kingdom	Agricultural and Biological Sciences Food Science	Informa Healthcare
H-INDEX	PUBLICATION TYPE	ISSN
73	Journals	09637486, 14653478

This website uses cookies to ensure you get the best experience on our website
<https://www.scimagojr.com/journalrank.php?area=1100> Got it!

Evaluation of physiochemical, antioxidant, proximate and nutritional values of virgin coconut oil (Cocos nucifera)

The screenshot shows a Google Scholar search result for the article "Evaluation of physiochemical, antioxidant, proximate and nutritional values of virgin coconut oil (Cocos nucifera)". The search query is "Evaluation of physiochemical, antioxidant, proximate and nutritional values of virgin coconut oil (Cocos nucifera)". The article is by MU Adaji, EM Ameh, SO Usman, et al., published in the Arabian Journal of Chemical and Environmental Research in 2020. The abstract states: "Virgin coconut oil can be a good food supplement due to its high medium-chain fatty acids unlike other cooking oils which contain long-chain fatty acids. This research is to investigate the physiochemical, antioxidant properties, proximate and nutritional values of Virgin coconut oil (VCO). The extract of virgin coconut oil was investigated for its proximate and nutritional composition showed that coconut oil can be good food supplement. The physiochemical parameters showed low iodine, saponification, peroxide, and acid value of ...". The article is available as a PDF on ResearchGate. The page also shows filters for "Semua jenis" (All types) and "Artikel kajian" (Review articles), and options to "sertakan paten" (include patents) and "mencakup kutipan" (include citations).

The screenshot shows the profile page for the Arabian Journal of Chemical and Environmental Research on the ICI World of Journals website. The journal is listed as "Non-indexed in the ICI Journals Master List 2020" and "Not reported for evaluation". The journal details include: English title: Arabian Journal of Chemical and Environmental Research; ISSN: 2458-6544 (print); GICID: n/d; DOI: n/d; Website: http://mocedes.org/ajcer/index.html; Publisher: University Mohammed Premier; Country: MA; Language of publication: n/d. The page also shows "Deposited publications: 0" and "Full text: 0% | Abstract: 0% | Keywords: 0% | References: 0%". The journal description states: "Arabian Journal of Chemical and Environmental Research (AJCER) (Arab. J. Chem. Environ. Res.) is a biannual peer-reviewed, open access". The page includes a "Got it!" button for the cookie policy and a "The editorial office of the journal" link.

Potensi Antioksidan Dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Dari Tanaman Kelapa Asal Papua

The screenshot shows a Google Scholar search result for the article "Potensi antioksidan dan antibakteri virgin coconut oil dari tanaman kelapa asal Papua". The search query is "POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI VIRGIN COCONUT OIL DARI". The article is by M. Pulung, R. Yoganegara, and E. R. Sianigar, published in Chemistry Progress, 2016. The abstract indicates that the study aims to determine the antioxidant and antibacterial potential of virgin coconut oil from Papua. The methods used include DPPH for antioxidant activity and a diffusion assay for antibacterial activity against E. coli and S. aureus. The results show that VCO has a higher inhibitory effect on S. aureus compared to E. coli.

Kapan saja
Sejak 2022
Sejak 2021
Sejak 2018
Rentang khusus...

Urutkan menurut relevansi
Urutkan menurut tanggal

Semua jenis
Artikel kajian

sertakan paten
 mencakup kutipan

Potensi antioksidan dan antibakteri virgin coconut oil dari tanaman kelapa asal Papua [PDF] unsrat.ac.id
M. Pulung, R. Yoganegara, E. R. Sianigar - Chemistry Progress, 2016 - ejournal.unsrat.ac.id
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dan antibakteri dari minyak kelapa asal Papua. Ekstrak minyak kelapa diperoleh dengan menggunakan metode fermentasi dan pemanasan. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH sementara aktivitas antibakteri dengan metode sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa VCO lebih baik menghambat pertumbuhan bakteri E. coli sementara VCO fermentasi lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri S. aureus. Uji aktivitas ...
☆ Simpan ✂ Kutip Dirujuk 21 kali Artikel terkait 2 versi

Menampilkan hasil terbaik untuk penelusuran ini. Lihat semua hasil

Bantuan Privasi Persyaratan



**PERBANDINGAN HASIL UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN MANGROVE KACANGAN (*Rhizophora
apiculata*) PADA VARIASI PELARUT MENGGUNAKAN
METODE ABTS**

NAMA : FATTYAH AZZAHRAH

NPM : 18330115

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
SEPTEMBER 2022**



**PERBANDINGAN HASIL UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN MANGROVE KACANGAN (*Rhizophora
apiculata*) PADA VARIASI PELARUT MENGGUNAKAN
METODE ABTS**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi**

Nama : Fatiyah Azzahrah

NPM : 18330115

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
SEPTEMBER 2022**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Fatiyah Azzahrah

NPM : 18330115

Tanggal : September 2022



(Fatiyah Azzahrah)

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fatiyah Azzahrah

NPM : 18330115

Mahasiswa : Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional

Tahun Akademik : 2022

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul **"Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Pada Variasi Pelarut Menggunakan Metode ABTS"**

Apabila suatu saat nanti saya terbukti melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian Surat Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, September 2022








(Fatiyah Azzahrah)

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Fatiyah Azzahrah
NPM : 18330115
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Pada Variasi Pelarut Menggunakan Metode ABTS

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains Dan Teknologi Nasional.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Amlius Thalib ()
Pembimbing II : Munawarohthus Sholikha, M.Si ()
Penguji I : Dr. apt. Tiah Rachmatiah, M.Si ()
Penguji II : Desy Muliana Wenas, M.Si ()
Penguji III : Ika Maruya Kusuma, M.Si ()

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : September 2022

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Pada Variasi Pelarut Menggunakan Metode ABTS”**. Adapun skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.

Pada kesempatan kali ini saya ucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Amlius Thalib selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Munawarohthus Sholikha, M.Si, selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan ilmu, masukan dan dukungan serta bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan pengarahan sejak pembuatan proposal hingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Atas bantuan dan dorongan semangat, saya juga menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Ibu apt. Dr. Refdanita, M.Si.
2. Kepala Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Ibu apt. Dr. Subaryanti, M.Si.
3. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama perkuliahan di Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.
4. Kedua orang tua saya Bapak Bastian dan Ibu Muhdalifah yang senantiasa selalu mendoakan, memberikan semangat, motivasi dan nasihat serta material yang tak terhingga selama ini.
5. Dosen dan staf Laboratorium Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Pamulang.

6. Adik saya Zahratun Nihaya dan Qonitah Farzanah serta keluarga besar yang senantiasa mendoakan dan memberikan semangat dalam penyelesaian tugas akhir ini.
7. Partner penelitian saya, Nayung Garnisaa Muharromah dan Tika Dwi Yolanda yang senantiasa memberikan dorongan, motivasi dan semangat demi terselesaikannya skripsi ini.
8. Sahabat-sahabat yang saya sayangi, Muti, Dita, Dewi, Lulu, Indes, Bocil dan Geya yang selalu memberikan semangat, doa, masukan dan dukungan serta senantiasa mendengarkan keluh kesah dalam pengerjaan skripsi ini.
9. Teman-teman Farmasi Angkatan 2018 yang telah memberikan doa dan semangat serta senantiasa menemani selama perjalanan perkuliahan dan tugas akhir.
10. Semua pihak yang telah membantu selama pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan hidayahNya serta balasan yang lebih atas semua bantuan dan dukungan yang telah diberikan. Dengan segala kerendahan hati, saya menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun diharapkan untuk kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi saya dan pembaca untuk pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi.

Jakarta, Juli 2022

Penulis



(Fatiyah Azzahrah)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademika Institut Sains dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fatiyah Azzahrah
NPM : 18330115
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non exclusive Royalty Free Right*)** atas skripsi saya yang berjudul :

**“Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove
Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Pada Variasi Pelarut Menggunakan
Metode ABTS”**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database) *softcopy* dan *hardcopy*, merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada Tanggal : September 2022

Yang menyatakan



(Fatiyah Azzahrah)

ABSTRAK

Nama : Fatiyah Azzahrah
Program Studi : Farmasi
Judul : Perbandingan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) Pada Variasi Pelarut Menggunakan Metode ABTS

Polaritas pelarut pengekstrak diprediksi memberikan efek terhadap kapasitas antioksidan hasil ekstrak dari suatu bahan tanaman. Penggunaan 3 macam pelarut pengekstrak (etanol 96%, metanol dan etil asetat) telah dilakukan untuk tujuan skrining fitokimia secara kualitatif dan uji aktivitas antioksidan simplisia dan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode ABTS dan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil percobaan menunjukkan bahwa skrining fitokimia serbuk simplisia positif mengandung fenolik, flavonoid dan tanin; ekstrak etanol 96% dan metanol positif mengandung fenolik, tanin, steroid/triterpenoid dan saponin; ekstrak etil asetat positif mengandung fenolik dan tanin. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) masing-masing yaitu 7,276 ppm; 5,682 ppm; 32,947 ppm. Sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1,324 ppm. Hasil tersebut menunjukkan ketiga ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) memiliki antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci : ABTS, Antioksidan, *Rhizophora apiculata*, Variasi Pelarut

ABSTRACT

Name : Fatiyah Azzahrah
Study Program : Pharmacy
Title : Comparison of Antioxidant Activity Test Results of Peanut Mangrove Leaf Extract (*Rhizophora apiculata*) in Solvent Variations Using the ABTS Method

The polarity of the extracting solvent is predicted to have an effect on the antioxidant capacity of the extract from a plant material. The use of 3 kinds of extracting solvents (ethanol 96%, methanol and ethyl acetate) has been carried out for the purpose of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity test of simplicia and leaf extract of mangrove nuts (*Rhizophora apiculata*) with ABTS method and vitamin C as positive controls. The experimental results showed that the phytochemical screening of simplicia powder was positive for containing phenolics, flavonoids and tannins; 96% ethanol extract and positive methanol contain phenolics, tannins, steroids/triterpenoids and saponins; positive ethyl acetate extract contains phenolic and tannin. The results of the antioxidant activity test showed that the IC₅₀ (Inhibitory Concentration) value of 96% ethanol extract, methanol and ethyl acetate of leaf mangrove nuts (*Rhizophora apiculata*) were 7.276 ppm, respectively; 5,682 ppm; 32,947 ppm. While vitamin C as a positive control resulted in an IC₅₀ value of 1.324 ppm. These results indicate that the three leaf extracts of mangrove nuts (*Rhizophora apiculata*) have very strong antioxidants.

Keywords : ABTS, Antioxidants, *Rhizophora apiculata*, Solvent Variation

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN MEDIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tanaman Mangrove Kacangan (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	5
2.1.1. Deskripsi Tanaman.....	5
2.1.2. Klasifikasi Tanaman.....	6
2.1.3. Kandungan Senyawa Kimia.....	6
2.1.4. Khasiat.....	6
2.2. Simplisia.....	7
2.3. Ekstrak dan Ekstraksi.....	7
2.3.1. Definisi Ekstrak.....	7
2.3.2. Definisi Ekstraksi.....	8
2.3.3. Metode Ekstraksi.....	8
2.4. Metabolit Sekunder.....	9
2.4.1. Alkaloid.....	10
2.4.2. Fenolik.....	10

2.4.3.	Flavonoid	10
2.4.4.	Terpenoid	11
2.4.5.	Tanin	11
2.4.6.	Saponin	11
2.5.	Cairan Pelarut	12
2.6.	Antioksidan	13
2.6.1.	Definisi Antioksidan	13
2.6.2.	Metode Uji Antioksidan.....	13
2.7.	Spektrofotometri UV Visible	15
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		17
3.1.	Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2.	Bahan Uji	17
3.3.	Prinsip Penelitian	17
3.4.	Bahan dan Alat Penelitian	17
3.4.1.	Bahan Penelitian	17
3.4.2.	Alat Penelitian	18
3.5.	Prosedur Penelitian	18
3.5.1.	Determinasi Tanaman	18
3.5.2.	Pembuatan Serbuk Simplisia.....	18
3.5.3.	Pembuatan Ekstrak Etanol 96%, Metanol, Etil Asetat	19
3.5.4.	Skrining Fitokimia	19
3.5.5.	Penentuan Uji Aktivitas Antioksidan	21
3.5.6.	Skema Penelitian	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		24
4.1	Determinasi Tanaman Uji	24
4.2	Hasil Pengumpulan dan Pembuatan Serbuk Simplisia	24
4.3	Hasil Ekstraksi Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	25
4.4	Hasil Skrining Fitokimia	27
4.5	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		33
5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Saran	33
DAFTAR PUSTAKA.....		34
LAMPIRAN.....		40

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Etanol 96% Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)	26
Tabel 4. 2 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Metanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)	26
Tabel 4. 3 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)	26
Tabel 4. 4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)	27
Tabel 4. 5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	29
Tabel 4. 6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>Rhizophora apiculata</i>	5
Gambar 2.2. Reaksi Peredaman Radikal Bebas ABTS Oleh Vitamin C.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi	40
Lampiran 2. Perhitungan Rendeman Ekstrak.....	41
Lampiran 3. Proses Ekstraksi Sampai Menjadi Ekstrak.....	44
Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia	47
Lampiran 5. Sertifikat ABTS	53
Lampiran 6. Sertifikat Vitamin C.....	54
Lampiran 7. Proses Uji Aktivitas Antioksidan	55
Lampiran 8. Hasil Penentuan dan Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan	57
Lampiran 9. Alat Dan Bahan	63

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berbagai penyakit pada tubuh manusia disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan ini dapat menyebabkan radikal bebas yang sangat reaktif sehingga dapat menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain yang menyebabkan stres oksidatif. Akibatnya, kemampuan darah untuk membawa oksigen berkurang dan menyebabkan apoptosis sel, serta paparan terus menerus yang dapat meningkatkan risiko penyakit. Oleh karena itu, tubuh membutuhkan antioksidan untuk menetralkan stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Faiqoh dkk., 2020).

Antioksidan merupakan senyawa atau komponen kimia yang mampu menghambat atau memperlambat radikal bebas. Salah satu mekanisme kerja antioksidan adalah dengan mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal sehingga dapat mengisi kekurangan elektron yang diperlukan radikal bebas dan menghambat reaksi berantai yang membentuk radikal bebas (Faisal, 2019). Antioksidan berdasarkan sumbernya dapat diperoleh dari bahan sintetik dan alami. Contoh antioksidan sintetik diantaranya *Butylated hydroxyanisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ). Sedangkan contoh dari antioksidan alami yaitu vitamin C, vitamin A, vitamin E dan yang berasal dari tanaman seperti senyawa flavonoid dan fenolik (Irianti dkk., 2017). Penggunaan antioksidan sintetik dikhawatirkan memiliki efek samping yang bersifat karsinogenik, sehingga alternatif lain yang sangat dibutuhkan yaitu menggunakan antioksidan alami yang berasal dari tanaman (Sayuti & Yenrina, 2015). Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan antioksidan alami yang banyak ditemukan pada tanaman, baik pada daun, bunga maupun buah (Purwanto dkk., 2017). Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan alami yaitu mangrove (Ridlo dkk., 2017).

Mangrove terdiri dari beberapa jenis salah satunya pada famili Rhizophoraceae yaitu *Bruguiera cylindrica*, *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora stylosa* (Djamaluddin, 2018). Pada penelitian ini jenis mangrove yang digunakan yaitu mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) atau sering disebut bakau minyak yang tumbuh disepanjang pesisir Indonesia (Haryoto & Frista, 2019). Mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) digunakan untuk pengobatan tradisional sebagai antimuntah dan antidiare. Kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman mangrove jenis ini meliputi alkaloid, flavonoid dan tanin yang dapat digunakan sebagai antibakteri, antimalaria dan antioksidan. Komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam mangrove ini yaitu jenis flavonoid seperti luteolin, asam hidrosik sinamil flavanol, apigenin, flavon, pigmen antosianin, dan benzophenon yang memiliki aktivitas dalam menghambat radikal bebas (Haryoto & Frista, 2019). Senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dapat disari dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda.

Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan 5 pelarut polar dan non polar yaitu etanol, metanol, butanol, heksana dan kloroform. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan butanol dari daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat baik dibandingkan ketiga pelarut lainnya (Ramalingam & Rajaram, 2018). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Haryoto & Frista (2019) dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96%, fraksi polar, semipolar dan non polar dari daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP. Hasil yang diperoleh dengan metode DPPH dan FRAP menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% lebih potensial dengan nilai IC_{50} yang didapatkan masing-masing yaitu 17,60 ppm dan 18,44 ppm dibandingkan dengan fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi non polar yang memperoleh nilai IC_{50} masing-masing yaitu 119,81; 176,59; 253,03 ppm untuk metode DPPH dan 154,81; 179,40; 259,25 ppm untuk metode FRAP. Selain itu, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap tanaman keluarga Rhizophoraceae juga telah dilakukan oleh Dia dkk.,

(2015) yang menyatakan bahwa pada ekstrak daun lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan pelarut etanol dan etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing yaitu 34,2723 dan 30,3964 ppm, dibandingkan dengan pelarut n-heksana dengan nilai IC_{50} sebesar 359,2408 ppm yang menunjukkan antioksidan sangat lemah. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat baik digunakan untuk uji aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti DPPH, FRAP dan ABTS. Metode uji yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ABTS (2,2-Azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid), merupakan metode uji untuk mengukur kapasitas antioksidan dengan langsung bereaksi atau meredam radikal kation ABTS. Metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH. Tidak seperti DPPH yang sensitif pada pH asam, metode ABTS lebih fleksibel yakni dapat digunakan dalam berbagai level pH. Sehingga, metode ini baik digunakan untuk melihat efek pH dalam aktivitas antioksidan berbagai senyawa (Irianti dkk., 2017). Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik (Wulansari, 2018). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Burhan dkk., (2019) uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS pada ekstrak batang murbei (*Morus alba* L.) menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker yang bekerja selektif terhadap sel kanker. Disamping itu, hasil aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS memberikan hasil yang lebih tinggi daripada pengujian dengan menggunakan metode DPPH yang memperoleh nilai IC_{50} masing-masing pada metode ABTS dan DPPH yaitu 32,1292 ppm dan 123,689 ppm (Sami & Rahimah, 2016). Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa uji antioksidan dengan menggunakan ABTS ternyata mampu memberikan indikator antioksidan yang lebih baik daripada DPPH.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan hasil uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun mangrove kacangan (*Rhizophora apiculata*) pada pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat dengan menggunakan metode ABTS. Penggunaan pelarut yang berbeda

dengan tingkat kepolarannya dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi jumlah kandungan senyawa yang tersari, yang mungkin akan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak yang didapat (Arista, 2013). Pengujian ini dilakukan dengan cara daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan variasi pelarut yaitu etanol 96%, metanol dan etil asetat. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian skrining fitokimia yang meliputi alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid dan saponin. Serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dengan vitamin C sebagai kontrol positif.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini apakah terdapat perbedaan hasil uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) pada pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat dengan menggunakan metode ABTS?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan hasil uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) pada pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat dengan menggunakan metode ABTS.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu kefarmasian tentang aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) pada variasi pelarut (etanol 96%, metanol dan etil asetat) menggunakan metode ABTS.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*)

2.1.1. Deskripsi Tanaman

Mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) sering pula disebut dengan bakau minyak, bakau tandok, bakau akik, bakau kecap dan lainnya. Pohon mangrove kacang ini tumbuh hingga ketinggian 30 meter, dengan akarnya tunjang dan akar udara. Kulit kayu berwarna abu-abu hingga gelap, sedikit lebih bersih/licin dari jenis yang lain. Daun berwarna hijau hingga hijau tua dengan bintik-bintik di bagian bawah, elips menyempit, kepala bunga kekuningan, menempel pada ketiak daun, 2 bunga per kelompok, 4 kelompok berwarna kuning-putih, tidak berbulu, kelopak bunga 4 berwarna kuning kecoklatan, benang sari 11 – 12 tak bertangkai. Buahnya seperti buah pir, berwarna coklat, berisi 1 biji fertil, hipokotil silindris berbintik berwarna hijau jingga, leher kotilidon berwarna kuning kecoklatan saat muda dan kemerahan saat matang. Habitat mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) pada tanah berlumpur tetapi tidak terlalu dalam, relatif lebih luas penyebarannya dibanding dua spesies *Rhizophora* lainnya (Djamaluddin, 2018).



Gambar 2.1. *Rhizophora apiculata* (Subagiyo dkk., 2022)

2.1.2. Klasifikasi Tanaman

Mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) diklasifikasikan sebagai berikut (Yulia & Leilani, 2019):

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Rhizophoraceae
Marga	: Rhizophora
Spesies	: <i>Rhizophora apiculata</i>
Nama Lokal	: Mangrove Kacangan, Bakau Minyak, Bakau Tandok, Bakau Akik, Bakau Puteh, Bakau Kacang

2.1.3. Kandungan Senyawa Kimia

Uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder pada mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) adalah alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Akasia dkk., 2021). Jenis flavonoid yang terkandung dalam mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yaitu luteolin, asam hidrosik sinamil flavanol, flavonol, apigenin, flavon, pigmen antosianin, dan benzophenon memiliki aktivitas dalam menghambat radikal bebas (Haryoto & Frista, 2019).

2.1.4. Khasiat

Hutan mangrove di Indonesia telah lama dikenal oleh masyarakat luas sebagai sumber dari berbagai makanan, zat warna, obat tradisional, bahan bangunan dan kayu bakar. Mangrove (buah, daun, batang, kulit batang dan akar) berkhasiat untuk pengobatan asma, diabetes, leukemia, rematik, hepatitis, penyakit kulit, penangkal racun ular, penyakit mata, kanker, tumor, kolera, disentri, malaria, demam, analgesik, antiseptik dan sebagai antibiotik. (Mardiansyah & Bahri, 2016).

Akar muda mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dapat digunakan untuk mengobati penyakit mangir (jamur di lidah) pada anak balita. Untuk sakit gigi, liver, lusiang (nyeri otot, sakit pinggang, sakit tulang, rematik), dan kulit gatal-gatal dapat digunakan hasil rebusan dari kulit batang dan daun dari jenis *Rhizophora apiculata* dan *Rhizophora stylosa*. Untuk pengobatan luka baru saat terkena benda tajam juga dapat menggunakan buah *Rhizophora apiculata* (Abubakar dkk., 2019).

2.2. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60⁰C. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral) (Kemenkes RI, 2017).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Simplisia nabati sering berasal dan berupa seluruh bagian tumbuhan, tetapi sering berupa bagian atau organ tumbuhan seperti akar, kulit akar, batang, kulit batang, kayu, bagian bunga dan sebagainya. Di samping itu, terdapat eksudat seperti gom, lateks, tragakanta, oleoresin, dan sebagainya (Endarini, 2016).

2.3. Ekstrak dan Ekstraksi

2.3.1. Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diproses untuk memenuhi standar yang telah ditentukan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan distilasi pada tekanan rendah, sehingga bahan tidak terkena panas sebanyak mungkin (Depkes RI, 2000).

2.3.2. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan senyawa metabolit sekunder target yang dipisahkan dari biomasa atau ampas atau bagian yang tidak diperlukan karena sifatnya yang mengganggu baik dari segi penyajiannya maupun karena merusak efektivitas bahan aktif yang tidak diinginkan (Nugroho, 2017).

2.3.3. Metode Ekstraksi

Berdasarkan (Depkes RI, 2000), Metode ekstraksi dibagi menjadi 2 yaitu, ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

a. Ekstraksi cara dingin terdiri dari :

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan terus-menerus. Remaserasi (perendaman ulang) adalah penambahan pelarut berulang kali setelah dilakukan filtrasi (penyaringan) maserat pertama, dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), dan berlanjut sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. Proses ekstraksi ini membutuhkan pelarut yang lebih banyak.

b. Ekstraksi cara panas terdiri dari :

1. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut pada titik didih untuk waktu tertentu dan pelarut dalam jumlah terbatas, yang menjadi relatif konstan ketika didinginkan kembali. Umumnya proses ini diulang hingga 3-5 kali untuk residu pertama sehingga dapat dianggap sebagai ekstraksi sempurna.

2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan biasanya dilakukan dengan menggunakan alat khusus, sehingga proses ekstraksi terus menerus dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik dengan pengadukan kontinu pada suhu di atas suhu kamar yang biasanya dilakukan pada suhu 40-50°C.

4. Infus

Infus merupakan sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air selama waktu tertentu (15-20 menit) pada suhu penangas air (bejana infus direndam dalam penangas air mendidih, suhu yang diukur yaitu 96-98°C).

5. Dekok

Dekok merupakan sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C dalam waktu yang lebih lama (30 menit).

6. Destilasi Uap

Destilasi uap merupakan proses ekstraksi senyawa volatil (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa volatil dengan fase uap air secara terus-menerus sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa volatil ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa volatil untuk memisahkan sebagian atau seluruh bagian dari senyawa.

2.4. Metabolit Sekunder

Proses kimia jenis lain hanya terjadi pada spesies tertentu untuk menghasilkan produk yang berbeda pada spesies yang berbeda. Reaksi seperti itu tampaknya bukan proses yang paling penting untuk kelangsungan hidup suatu organisme, seperti yang disebut metabolisme sekunder. Produk-produk metabolisme sekunder ini disebut metabolit sekunder, seperti senyawa terpen,

alkaloid, fenol, dan lain-lain. Meskipun tidak begitu penting bagi kelangsungan hidup individu, metabolit sekunder sering berperan dalam kelangsungan hidup suatu spesies dalam memerangi spesies-spesies lain, misalnya sebagai zat pertahanan dan zat penarik lawan jenisnya (Endarini, 2016).

2.4.1. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik dengan berat molekul rendah yang mengandung nitrogen dan memiliki efek farmakologis pada manusia dan hewan. Secara alami, alkaloid tersimpan dalam biji, buah, batang, akar, daun dan organ lainnya. Penamaan alkaloid berasal dari kata alkali, istilah ini mengacu pada keberadaan atom basa nitrogen. Alkaloid ditemukan pada tumbuhan (seperti *Vinca* dan *Datura*), hewan (kerang) dan jamur. Alkaloid umumnya berasal dari asam amino dan banyak alkaloid bersifat racun. Alkaloid juga banyak digunakan sebagai pengobatan (Endarini, 2016).

2.4.2. Fenolik

Senyawa fenolik dicirikan dengan adanya paling tidak sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat dengannya. Lebih dari 8.000 jenis senyawa fenolik yang telah diidentifikasi dari berbagai tumbuhan, dari yang paling sederhana dengan satu sebuah cincin aromatik dan berat molekul yang rendah sampai dengan senyawa tanin yang kompleks serta berbagai turunan polifenol yang sangat beragam. Senyawa fenol yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil pada cincin aromatik disebut sebagai senyawa polifenol. Polifenol dapat dikategorikan menjadi dua kelompok, yaitu flavonoid dan non-flavonoid (Nugroho, 2017).

2.4.3. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan karena banyaknya variasi struktur, tetapi karena berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikoksilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Endarini, 2016). Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang paling beragam dan dapat ditemukan di hampir seluruh tanaman, dan umumnya ditemukan pada jaringan epidermis daun dan kulit buah. Kelompok utama flavonoid meliputi : flavonol, flavon, isoflavon, flavanon,

flavanol dan antosianin. Adapun kelompok lain dalam jumlah sangat kecil antara lain antara lain : kumarin, kalkon, dihidroflavonol dan auron (Nugroho, 2017).

2.4.4. Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa metabolit sekunder, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, namun berdasarkan penelitian diketahui bahwa jamur, biota laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebas, terpenoid di alam juga ditemukan dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa pada golongan terpenoid diklasifikasikan menurut jumlah atom karbon yang terbentuk (Endarini, 2016).

2.4.5. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksil atau gugus lain seperti karboksil untuk membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan beberapa makromolekul seperti protein, pati, selulosa dan mineral. Karakteristik tanin adalah adanya paling sedikit 12 gugus hidroksil atau 5 gugus fenil yang dapat berfungsi dalam mengikat protein. Dari sifat kimia tersebut, tanin memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein dari larutan dengan cara mengikatnya. Jumlah hidroksil yang melimpah memungkinkan tanin berfungsi sebagai senyawa pengikat logam yang kuat. Karena itu, terlalu banyak mengkonsumsi tanin dapat menyebabkan anemia karena tanin yang mengikat zat besi dalam darah (Nugroho, 2017).

2.4.6. Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon dalam bentuk sapogenin. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga akan menghasilkan buih di permukaan air setelah dikocok. Sifat ini memiliki kemiripan dengan surfaktan. Penurunan tegangan permukaan ini disebabkan adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen di dalam air. Senyawa sabun ini terdiri dari dua bagian yang polaritasnya tidak sama. Struktur kimia saponin adalah glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya.

Bagian aglikon merupakan saponin. Sifat amfifilik ini dapat menyebabkan bahan alam yang mengandung saponin berperan sebagai surfaktan (Nurzaman dkk., 2018).

2.5. Cairan Pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak merupakan pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa yang aktif atau mengandung khasiat, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih untuk melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (Depkes RI, 2000).

Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan disebut sebagai kelompok spesifikasi "pharmaceutical grade". Sampai saat ini aturan yang berlaku bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol atau alkohol beserta turunannya, heksana (hidrokarbon alifatik), toluen (hidrokarbon aromatik), kloroform, aseton dan lain-lain umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus untuk metanol, penggunaannya dihindari karena bersifat toksik akut dan kronik, tetapi jika uji menunjukkan sisa pelarut negatif dalam ekstrak, maka sebenarnya metanol merupakan pelarut yang lebih baik daripada etanol (Depkes RI, 2000).

a. Etanol (C_2H_5OH)

Etanol merupakan pelarut organik yang biasa digunakan dalam mengekstraksi pewarna alami dari berbagai tumbuhan. Selain itu, etanol lebih ramah lingkungan daripada metanol. Etanol adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari (Basito, 2011).

b. Metanol (CH_3OH)

Pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Metanol merupakan

cairan penyari yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit skunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna (Latif dkk., 2018).

c. Etil Asetat ($C_4H_8O_2$)

Cairan jernih, tak berwarna, berbau khas yang digunakan sebagai pelarut tinta, perekat dan resin. Selain dari penggunaannya sebagai pelarut, etil asetat dapat berfungsi sebagai bahan aditif untuk meningkatkan bilangan oktan pada bensin serta dapat berguna sebagai bahan baku kimia serba guna (Nst dkk., 2015). Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Putri, W.S dkk., 2013).

2.6. Antioksidan

2.6.1. Definisi Antioksidan

Secara kimia, senyawa antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron. Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau mengurangi efek negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektron pada senyawa yang bersifat oksidan sehingga dapat menghambat aktivitas oksidan tersebut. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melindunginya dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang pada kadar atau jumlah tertentu dapat menghambat atau memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan eksogen ketika banyak radikal bebas yang terbentuk. Penggunaan antioksidan sintetik dikhawatirkan memiliki efek samping yang bersifat karsinogenik, sehingga alternatif lain yang sangat dibutuhkan yaitu menggunakan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan (Sayuti & Yenrina, 2015).

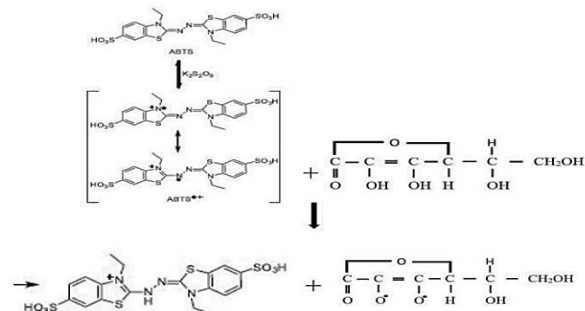
2.6.2. Metode Uji Antioksidan

1. Metode ABTS

Metode ABTS (2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) merupakan metode uji yang mengukur kapasitas antioksidan dengan cara

mereaksikan atau meredam secara langsung radikal kation ABTS dari reaksi kimia. ABTS adalah radikal dengan pusat nitrogen. Pusat nitrogen tersebut memiliki warna biru kehijauan yang bila direduksi oleh antioksidan menjadi radikal tidak berwarna. Prinsip dari metode ini yaitu penghambatan pembentukan kation radikal ABTS dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 734 nm pada waktu tertentu berdasarkan pembacaan spektrofotometer. Metode ini baik digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dan fenolik. ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH. Berbeda dengan DPPH yang sensitif terhadap pH asam, metode ABTS lebih fleksibel dan dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda. Oleh karena itu, metode ini baik digunakan untuk mengidentifikasi pengaruh pH terhadap aktivitas antioksidan berbagai senyawa. ABTS larut dalam pelarut organik dan non organik (Irianti dkk., 2017).

Gambar 2.1. Reaksi peredaman radikal bebas ABTS oleh vitamin C



ABTS dioksidasi oleh kalium persulfat sehingga menghasilkan kation radikal ABTS, kemudian kation radikal ABTS distabilkan dengan vitamin C dengan mendonorkan elektron kepada radikal bebas sehingga kation radikal ABTS stabil, sedangkan vitamin C teroksidasi menjadi *semidehydroascorbic acid* yang relatif stabil (Puspitasari dkk., 2019).

2. Metode DPPH

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan radikal nitrogen organik stabil yang berwarna ungu tua dan stabil pada suhu kamar. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Brand-williams. DPPH menerima elektron atau hidrogen untuk membentuk molekul yang stabil. Penyerapan warna

violet pada panjang gelombang 517 nm disebabkan oleh delokalisasi elektron. Pengukuran dengan metode DPPH merupakan cara yang sederhana, cepat dan tidak memerlukan reagen sebanyak metode lainnya, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis. DPPH umumnya digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dari beberapa ekstrak atau bahan alam untuk menilai potensi antioksidan dalam meredam radikal bebas (Irianti dkk., 2017).

3. Metode FRAP

FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) merupakan salah satu uji aktivitas antioksidan tercepat dan sangat berguna untuk analisis rutin. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan mengukur serapan karena pembentukan ion Fe^{2+} dari reagen FRAP. Reagen tersebut berisi TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl-s-triazine) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Prinsip kerja metode ini adalah mereduksi analog ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripiridiltriazin menjadi kompleks Fe^{2+} . Ion ferro menjadi biru jika ditambah dengan antioksidan dalam suasana asam (pH 3,6). Hasil pengujian dinyatakan sebagai peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 595 nm (Irianti dkk., 2017).

2.7. Spektrofotometri UV Visible

Spektrofotometri UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm-700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya (Irawan, 2019).

Spektroskopi UV-VIS dapat dilakukan untuk analisis kualitatif dan untuk identifikasi kelas tertentu dari senyawa dalam campuran murni dan biologis. Spektroskopi UV-VIS dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul-molekul aromatik adalah kromofor kuat dalam rentang UV. Senyawa alami dapat ditentukan dengan menggunakan spektroskopi UV-VIS.

Senyawa fenolik termasuk antosianin, tanin, pewarna polimer, dan fenol membentuk kompleks dengan besi yang telah terdeteksi oleh spektroskopi UV-VIS. Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan total fenolik ekstrak (280 nm), flavones (320 nm), asam fenolik (360 nm), dan total anthosianid (520 nm). Teknik ini tidak memakan waktu, dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan teknik lain (Julianto, 2019).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan dari bulan Mei hingga Juli 2022. Adapun tempat pelaksanaan penelitian sebagai berikut :

1. Determinasi dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor.
2. Pembuatan Ekstrak dan Uji Aktivitas Antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia, Universitas Pamulang.
3. Skrining Fitokimia dilakukan di Politeknik AKA (Akademi Kimia Analisis), Bogor.

3.2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yang diperoleh dari Pantai “Karangan Mangrove” Pulau Lancang, Kepulauan Seribu.

3.3. Prinsip Penelitian

Serbuk daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dilakukan proses tahap awal yaitu ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat. Hasil filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang diperoleh dilakukan pengujian skrining fitokimia yang meliputi uji alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid, serta uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS.

3.4. Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*), etanol 96%, metanol, etil asetat, HCl pekat, aquadest, etanol p.a (merck), pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi

Dragendorff, serbuk magnesium, kloroform, anhidra asetat, FeCl_3 , H_2SO_4 pekat, ABTS (Sigma- Aldrich), kalium persulfat dan vitamin C.

3.4.2. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu blender, ayakan mesh 60, timbangan analitik, beaker glass (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), erlenmeyer (Iwaki), corong kaca (Pyrex), kertas saring, alumunium foil, tabung reaksi (Iwaki), spatula, sendok tanduk, batang pengaduk (Pyrex), pipet tetes (Borosil), pipet ukur (Borosil), botol kaca gelap, labu ukur (Pyrex), mikropipet (Socorex), magnetic stirrer, vortex mixer, *rotary vacuum evaporator* dan spektrofotometer UV-Vis (Agilent Cary 60).

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk mencocokkan keadaan tanaman yang diteliti berdasarkan literatur dan kunci-kunci determinasi untuk memastikan identitas tanaman dan menghindari kesalahan pada saat pengambilan tanaman yang diteliti (Haryoto & Frista, 2019). Determinasi daun mangrove kacangan (*Rhizophora apiculata*) dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor.

3.5.2. Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun mangrove kacangan (*Rhizophora apiculata*) segar yang telah dikumpulkan, selanjutnya disortasi basah untuk memisahkan benda-benda asing dan kotoran lainnya yang tersisa selama proses pengumpulan bahan. Setelah itu, daun mangrove kacangan dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun tersebut, kemudian ditiriskan. Selanjutnya daun dirajang untuk mempermudah proses pengeringan, lalu dikeringkan. Setelah itu, simplisia kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk yang diperoleh kemudian diayak dengan ayakan mesh 60 lalu ditimbang, dicatat hasilnya dan simpan dalam wadah. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi (Latif dkk., 2018).

3.5.3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96%, Metanol dan Etil Asetat

Sebanyak 1350 gram serbuk simplisia daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimaserasi menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol 96%, metanol dan etil asetat. Setiap pelarut menggunakan masing-masing 150 gram serbuk, kemudian dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan pelarut sampai 150 gram serbuk terendam. Selanjutnya didiamkan selama 24 jam dan campuran daun mangrove kacang yang sudah didiamkan selama 24 jam tersebut disaring dengan corong steril yang dilapisi kertas saring untuk memisahkan filtrat dari endapan/ampas. Hasil filtrat yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam masing-masing botol kaca berwarna gelap dan ditutupi alumunium foil yang bertujuan agar terhindar dari cahaya dan tidak teroksidasi. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya masing-masing filtrat yang diperoleh dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45°C sehingga diperoleh ekstrak pekat (Tutik dkk., 2018). Hasil ekstrak pekat yang diperoleh kemudian ditentukan nilai rendemannya dengan rumus sebagai berikut :

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

3.5.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yang meliputi, uji alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid.

1. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, lalu ditetesi dengan 5 ml asam klorida (HCl) 2 N, kemudian dipanaskan dan didinginkan. Selanjutnya masing-masing 1 ml filtrat dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Setiap tabung reaksi ditambahkan masing-masing pereaksi. Penambahan pereaksi Mayer dinyatakan positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat dan pada

penambahan pereaksi Dragendrof, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Muthmainnah, 2017).

2. Identifikasi Fenolik

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest, lalu dipanaskan sampai mendidih selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1% akan terbentuk warna hijau atau hitam kehijauan menunjukkan adanya fenolik (Jumawardi dkk., 2021).

3. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium (Mg) lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Hasil uji dinyatakan positif flavonoid jika ditandai dengan terbentuknya warna merah atau kuning (Muthmainnah, 2017).

4. Identifikasi Saponin

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan. Setelah itu, didinginkan dan dikocok selama 10 detik. Hasil uji dinyatakan positif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih setinggi 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes asam klorida (HCl) 2 N buih tidak hilang (Muthmainnah, 2017).

5. Identifikasi Tanin

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, lalu

ditambahkan dengan 10 ml air panas dan ditetesi dengan larutan FeCl_3 . Hasil uji dinyatakan positif tanin ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kehitaman (Rante dkk., 2020).

6. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan dilarutkan dengan 2 ml kloroform, kemudian ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 2 tetes H_2SO_4 pekat. Apabila terbentuk warna jingga dan ungu maka menunjukkan bahwa adanya senyawa triterpenoid. Sedangkan apabila terbentuk warna biru dan hijau, maka menunjukkan adanya senyawa steroid (Putri dkk., 2012).

3.5.5. Penentuan Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan Ekstrak pada Berbagai Konsentrasi

Masing-masing ekstrak yang terdiri dari etanol 96%, metanol dan etil asetat ditimbang sebanyak 8 mg dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol p.a dan disesuaikan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat larutan ekstrak pada konsentrasi 3,2 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm dan 80 ppm, 200 ppm (Purwanto dkk., 2017).

2. Pembuatan Larutan Vitamin C

Pembuatan larutan vitamin C dengan cara menimbang sebanyak 5 mg asam askorbat dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian dilarutkan dengan menggunakan etanol p.a dan disesuaikan volumenya hingga tanda batas. Selanjutnya, dibuat larutan ekstrak pada konsentrasi 3,2 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm dan 80 ppm, 200 ppm (Purwanto dkk., 2017).

3. Pembuatan Larutan Stok ABTS

Sebanyak 71 mg serbuk ABTS ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan dengan 50 ml etanol p.a. Selanjutnya kalium persulfat ditimbang 35 mg dan dilarutkan dalam 50 ml etanol p.a, lalu keduanya diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap. Larutan tersebut kemudian dicampur dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sampai 250 ml (Sami & Rahimah, 2016).

4. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

Untuk penentuan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS, masing-masing sampel dengan berbagai konsentrasi (3,2; 8; 16; 32; 80; 200 ppm) dipipet sebanyak 0,5 ml lalu dicampur dengan 2 ml stok ABTS. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm dengan spektrofotometer UV-Visible. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali dengan vitamin C sebagai pembanding (Faisal, 2019). Nilai presentase inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs. Blanko = Absorbansi larutan kontrol

Abs. Sampel = Absorbansi larutan ekstrak

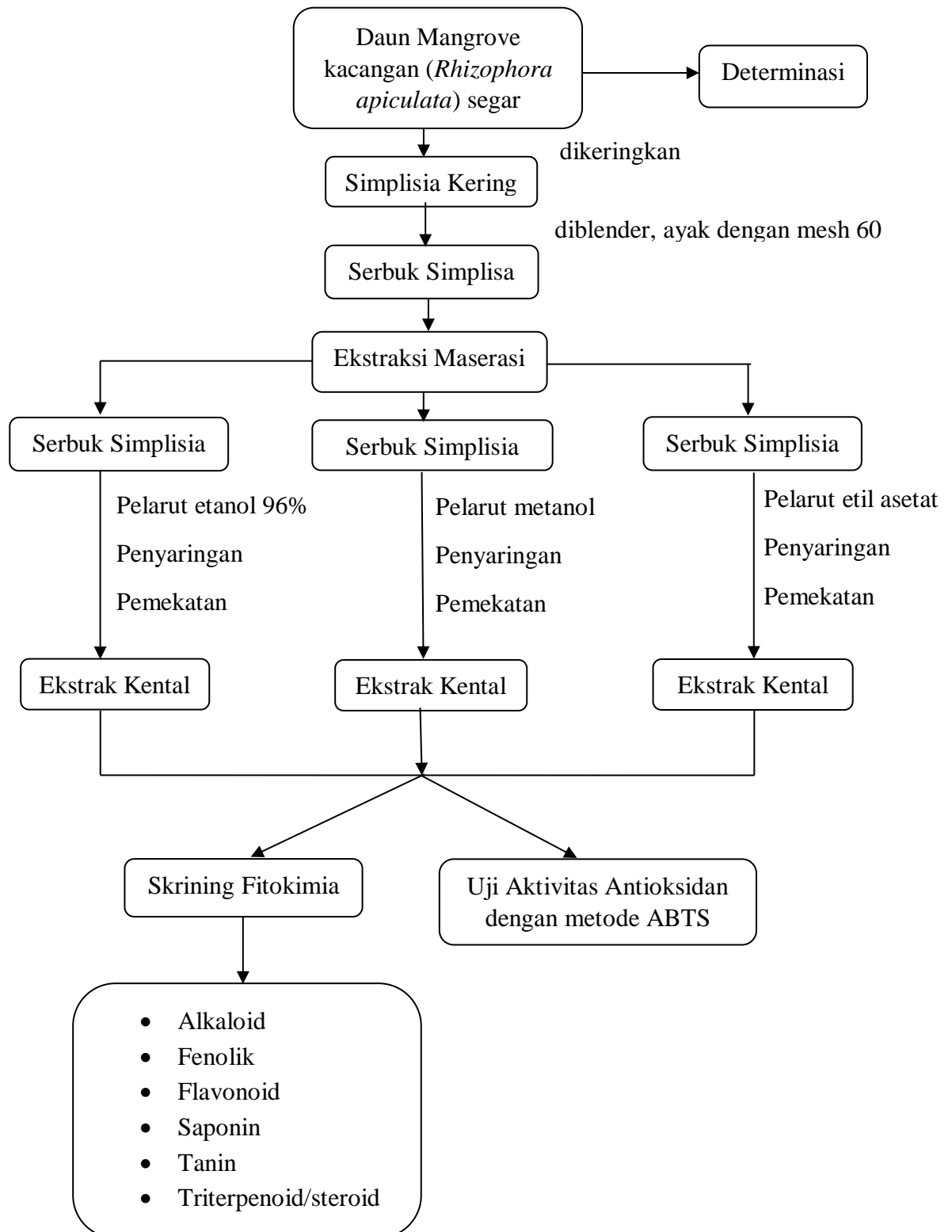
Hasil perhitungan % inhibisi selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak sebagai (sumbu x) dan nilai % inhibisi antioksidan sebagai (sumbu y) (Faisal, 2019). Perhitungan nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$y = ax + b$$

Keterangan : $y = 50\%$ $a = \text{intersep}$

$x = IC_{50}$ $b = \text{slop}$

3.5.6. Skema Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman Uji

Determinasi dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor. Bahan yang digunakan adalah daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*). Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar tanaman mangrove kacang dengan nama latin (*Rhizophora apiculata*) dari famili *Rhizophoraceae*, sehingga sesuai dengan yang dimaksud dan dapat digunakan dalam tahapan penelitian selanjutnya. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Hasil Pengumpulan dan Pembuatan Serbuk Simplisia

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yang diperoleh dari Pantai “Karangan Mangrove” yang terdapat di Pulau Lancang, Kepulauan Seribu. Daun yang dipetik dari pohon sebanyak 6 kg yang telah dipisahkan dari batang, selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tersisa selama proses pengumpulan bahan. Daun mangrove kacang kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun tersebut, lalu ditiriskan. Setelah itu, daun dirajang untuk mempermudah proses pengeringan agar lebih cepat dan dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain berwarna hitam atau gelap guna menghindari kotoran atau benda asing masuk dan tercampur pada daun tersebut. Proses pengeringan dilakukan selama 7 hari sampai daun benar-benar kering dan didapatkan simplisia kering sebanyak 5 kg. Tujuan dari proses pengeringan yaitu mengurangi kandungan air di dalam bahan agar tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Lady dkk., 2020). Selanjutnya, dilakukan penghalusan menggunakan blender hingga menjadi serbuk,

kemudian serbuk yang diperoleh diayak menggunakan ayakan mesh 60 sehingga didapatkan hasil serbuk simplisia sebanyak 1500 gram.

4.3 Hasil Ekstraksi Daun Mangrove (*Rhizophora apiculata*)

Proses ekstraksi serbuk simplisia daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dilakukan dengan cara maserasi. Metode ini dipilih karena memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaan yang mudah dan peralatan yang digunakan sederhana. Sebanyak 1350 gram serbuk daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) diekstraksi menggunakan 3 pelarut yang berbeda yaitu etanol 96%, metanol dan etil asetat. Proses maserasi dilakukan dengan 3 kali pengulangan pada masing-masing pelarut. Pemilihan pelarut yang digunakan yaitu bersifat polar dan semi polar, penggunaan pelarut yang berbeda sifat kepolarannya dimaksudkan untuk memperoleh ekstrak senyawa aktif yang berbeda berdasarkan kelarutannya (Amir dkk., 2020). Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar (Wendersteyt dkk., 2021). Pemilihan metanol sebagai pelarut dikarenakan pelarut ini dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar sehingga sangat baik untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel yang digunakan (Muaja dkk., 2017), dan penggunaan pelarut etil asetat karena mudah diuapkan dan memiliki toksisitas rendah (Putri, W. S dkk., 2013).

Pada saat proses penyarian dilakukan pengadukan sesekali yang bertujuan agar cairan penyari dapat menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, maka larutan yang lebih pekat akan didesak keluar sehingga serbuk dapat terekstraksi sempurna (Arista, 2013). Setelah 24 jam, dilakukan penyaringan dengan corong yang dilapisi kertas saring. Hasil filtrat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45°C. Penentuan suhu yang digunakan dalam proses ini sangat mempengaruhi komponen aktif yang terdapat dalam filtrat. Suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan kerusakan komponen-komponen

bioaktif dalam ekstrak, sehingga suhu 45°C dianggap sesuai dan diharapkan dapat menghindari kerusakan senyawa aktif dalam ekstrak (Amir dkk., 2020). Hasil rendeman ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.1 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Etanol 96% Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora Apiculata*)

Simplisia Daun Mangrove Kacangan	Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendeman (%)
Ulangan Ke-1	150	16,49	10,99
Ulangan Ke-2	150	16,44	10,96
Ulangan Ke-3	150	16,46	10,97
Rata-Rata Rendeman Ekstrak ± SD			10,97 ± 0,015

Tabel 4.2 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Metanol Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora Apiculata*)

Simplisia Daun Mangrove Kacangan	Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendeman (%)
Ulangan Ke-1	150	22,67	15,11
Ulangan Ke-2	150	22,76	15,17
Ulangan Ke-3	150	22,73	15,15
Rata-Rata Rendeman Ekstrak ± SD			15,14 ± 0,030

Tabel 4.3 Hasil Presentase Perhitungan Rendeman Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora Apiculata*)

Simplisia Daun Mangrove Kacangan	Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendeman (%)
Ulangan Ke-1	150	4,07	2,71
Ulangan Ke-2	150	4,09	2,73
Ulangan Ke-3	150	4,04	2,69
Rata-Rata Rendeman Ekstrak ± SD			2,71 ± 0,020

Berdasarkan tabel di atas, menunjukkan hasil rata-rata rendeman ekstrak yang diperoleh pada pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat masing-masing sebesar 10,97%; 15,14%; 2,71%. Rendeman ekstrak dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Oleh karena itu, hasil rendeman ekstrak yang diperoleh menunjukkan bahwa yang menghasilkan rata-rata rendeman ekstrak tertinggi yaitu pelarut metanol sebesar 15,14%, sedangkan rendeman ekstrak terendah dihasilkan dari pelarut etil asetat sebesar 2,71%. Perbedaan jenis pelarut

mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan. Pelarut metanol menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lain yang memiliki polaritas lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dalam ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) memiliki kepolaran yang mendekati metanol, karena perolehan senyawa didasarkan pada kesamaan kepolaran dengan pelarut (Savitri dkk., 2017).

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai rendeman yang lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Hanapi dkk., (2019) bahwa pada ekstrak metanol dan etil asetat daun bakau merah (*Rhizophora stylosa*) menghasilkan nilai rendeman masing-masing sebesar 18,60% dan 7,09%. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan perbandingan pelarut dengan bahan yang digunakan, sehingga dapat mempengaruhi nilai rendeman ekstrak yang diperoleh.

4.4 Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*). Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, triterpenoid/steroid dan saponin. Hasil skrining fitokimia daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dapat dilihat pada tabel 4.4 dan pada lampiran 4.

Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*)

Senyawa Kimia	Hasil Skrining Fitokimia			
	Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol 96%	Ekstrak Metanol	Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	-	-	-	-
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	-	-	-
Tanin	+	+	+	+
Steroid/ Triterpenoid	-	+	+	-
Saponin	-	+	+	-

Keterangan : (-) Menyatakan tidak terdapat kandungan kimia

(+) Menyatakan terdapat kandungan kimia

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada serbuk simplisia adalah fenolik, flavonoid, dan tanin. Pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak metanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) mengandung senyawa fenolik, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid. Sedangkan ekstrak etil asetat mengandung senyawa fenolik, dan tanin.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin dan steroid (Akasia dkk., 2021). Sedangkan pada penelitian ini serbuk simplisia dan ketiga ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) tidak mengandung senyawa alkaloid. Hal ini diduga karena adanya perbedaan lingkungan tempat tumbuh mangrove pada penelitian sebelumnya yang dapat menjadi faktor yang mempengaruhi keberadaan kandungan kimia pada tumbuhan. Perbedaan umur daun yang diambil dan diteliti juga dapat mempengaruhi jenis dan jumlah kandungan kimia yang dimiliki oleh ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*).

Berdasarkan hasil skrining fitokimia tersebut menunjukkan bahwa yang mengandung senyawa metabolit sekunder terbanyak adalah ekstrak etanol 96% dan ekstrak metanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*). Hal ini dikarenakan ekstrak etanol 96% dan metanol merupakan pelarut polar yang memiliki kemampuan untuk melarutkan hampir seluruh golongan metabolit sekunder baik yang bersifat polar maupun non polar (Akasia dkk., 2021). Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa serbuk simplisia, ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) berpotensi sebagai antioksidan dikarenakan adanya kandungan senyawa fenolik.

4.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan pada ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan menggunakan metode ABTS (2,2-azinobis, 3-ethylbenzothiazoline, 6-sulfonic acid). Metode ABTS merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari hasil oksidasi kalium persulfat dengan garam diammonium ABTS. Metode ABTS sangat sensitif terhadap cahaya, sehingga dalam pembentukan ABTS memerlukan waktu inkubasi selama 12-16 jam dalam kondisi gelap. ABTS merupakan suatu radikal dengan pusat nitrogen yang mempunyai karakteristik warna biru-hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk non radikal dari berwarna menjadi tidak berwarna. Prinsip pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS adalah penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan radikal kation ABTS (Setiawan dkk., 2018).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) beserta kontrol positif yaitu vitamin C dilakukan berbagai seri konsentrasi (3,2; 8; 16; 32; 80; 200 ppm) dengan menggunakan metode ABTS yang selanjutnya absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 734 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Aktivitas Peredaman (%)		
		1	2	3	1	2	3
Vitamin C	3.2	0,0521	0,0537	0,0529	53,36	51,92	52,64
	8	0,0365	0,0299	0,0309	67,32	73,23	72,34
	16	0,0284	0,0248	0,0268	74,57	77,80	76,01
	32	0,0206	0,0196	0,0216	81,56	82,45	80,66
	80	0,0102	0,0119	0,0101	90,87	89,35	90,96
	200	0,0079	0,0057	0,0089	92,93	94,90	92,03
	Rata-Rata IC₅₀ ± SD					1,324 ± 0,189	

Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Aktivitas Peredaman (%)		
		1	2	3	1	2	3
Ekstrak Etanol 96%	3,2	0,0701	0,0733	0,0783	41,14	38,46	34,04
	8	0,0593	0,0532	0,0541	50,21	55,32	54,42
	16	0,0512	0,0484	0,0401	57,01	59,36	66,22
	32	0,0474	0,0427	0,0296	60,20	64,15	75,06
	80	0,0335	0,0358	0,0209	71,87	69,94	82,39
	200	0,0261	0,0269	0,0129	78,09	77,41	89,13
	Rata-Rata IC₅₀ ± SD				7,276 ± 0,0835		
Ekstrak Metanol	3,2	0,0673	0,0639	0,0675	43,49	46,35	44,40
	8	0,0543	0,0582	0,0557	54,41	51,13	54,12
	16	0,0512	0,0512	0,0534	57,01	57,01	56,01
	32	0,0464	0,0476	0,0425	61,04	60,03	64,99
	80	0,0424	0,0437	0,0400	64,40	63,31	67,05
	200	0,0364	0,0368	0,0339	69,44	69,10	72,08
	Rata-Rata IC₅₀ ± SD				5,682 ± 0,174		
Ekstrak Etil Asetat	3,2	0,0760	0,0734	0,0797	37,14	37,48	32,11
	8	0,0672	0,0683	0,0692	44,42	41,82	41,06
	16	0,0632	0,0647	0,0625	47,73	44,89	46,76
	32	0,0602	0,0583	0,0581	50,21	50,34	50,51
	80	0,0561	0,0497	0,0499	53,60	57,67	57,50
	200	0,0526	0,0467	0,0470	56,49	60,22	59,97
	Rata-Rata IC₅₀ ± SD				32,947 ± 2,777		

Pada tabel di atas menunjukkan semakin besar konsentrasi sampel, maka absorbansi menurun dan persen inhibisi meningkat. Hal tersebut dikarenakan elektron pada ABTS menjadi berpasangan dengan elektron sampel, sehingga terjadi reduksi ABTS atau perubahan warna dari hijau-biru menjadi bening atau tidak berwarna. Dan meningkatnya persen inhibisi menunjukkan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkap radikal bebas (Damanis dkk., 2020).

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas ABTS. Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan terhadap ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) diperoleh nilai IC₅₀ masing-masing sebesar

7,276 ppm; 5,682 ppm; dan 32,947 ppm. Perbandingan jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan yang diperoleh. Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektriknya dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan non polar. Konstanta dielektrik dinyatakan sebagai gaya tolak menolak antara dua pertikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul. Semakin tinggi konstanta dielektriknya maka pelarut bersifat semakin polar. Konstanta dielektrik pada metanol, etanol dan etil asetat masing-masing mempunyai nilai yaitu 33, 24 dan 6. Berdasarkan pada uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol memberikan nilai IC_{50} terkecil (aktivitas antioksidan tertinggi) dibandingkan pada penggunaan pelarut etanol 96% maupun etil asetat. Hal ini diduga karena didalam sampel daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) banyak terdapat senyawa bioaktif seperti fenolik dan tanin yang bersifat polar sehingga pelarut polar (metanol) lebih banyak menarik komponen bioaktif yang ada pada daun mangrove kacang tersebut (Purwanto dkk., 2017). Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dapat dilihat pada tabel 4.6.

Pada penelitian yang telah dilakukan Berawi & Marini (2018) menunjukkan bahwa kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) berpotensi sebagai antioksidan dengan metode ABTS. Hasil penelitian ini menggunakan metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan metode DPPH dan FRAP pada ekstrak etanol mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yang menghasilkan nilai IC_{50} lebih besar yaitu masing-masing sebesar 17,6 ppm dan 18,44 ppm (Haryoto & Frista, 2019).

Pada penelitian ini, vitamin C digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*). Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi yang berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain. Vitamin C juga mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Ikhrar dkk., 2019). Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa vitamin C sebagai kontrol

positif menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1,324 ppm, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari ketiga ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) lebih besar dari vitamin C, yang berarti vitamin C lebih kuat dibandingkan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan. Hal ini menandakan bahwa sifat antioksidan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) bersifat lemah jika dibandingkan dengan vitamin C (Purwanto dkk., 2017), karena vitamin C merupakan senyawa murni yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sedangkan ekstrak masih dalam bentuk campuran senyawa lain yang kemungkinan memiliki khasiat yang beragam (Fitriani & Laode Rijai, 2019). Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada tabel 4.5.

Secara spesifik suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} -nya < 50 , kuat jika IC_{50} -nya 50-100, sedang jika nilai IC_{50} -nya 101-150, lemah jika nilai IC_{50} -nya 151-200, dan sangat lemah jika nilai IC_{50} -nya >200 (Saputri dkk., 2020). Berdasarkan penggolongan tersebut, ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) serta vitamin C sebagai kontrol positif memiliki tingkat kekuatan antioksidan yang sangat kuat. Hal tersebut dikarenakan semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Perhitungan nilai IC_{50} dan gambar kurva persamaan regresi dapat dilihat pada lampiran 8.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol 96%, metanol dan etil asetat daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) masing-masing yaitu 7,276 ppm; 5,682 ppm; 32,947 ppm. Sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 1,324 ppm. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa ketiga ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

5.2 Saran

Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) secara in vitro. Maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) secara in vivo dan dilakukan analisis kuantitatif senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan pelarut etanol 96%, metanol dan etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, S., Kadir, M. A., Wibowo, E. S., & Akbar, N. (2019). Manfaat Mangrove Bagi Peruntukan Sediaan Farmasitika di Desa Mamuya Kecamatan Galela Timur Kabupaten Halmahera Timur (Tinjauan Etnofarmakologis). *Jurnal Enggano*, 4(1), 12–25. <https://doi.org/10.31186/jenggano.4.1.12-25>
- Akasia, A. I., Nurweda Putra, I. D. N., & Giri Putra, I. N. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24843/jmrt.2021.v04.i01.p03>
- Amir, M., Ullu, A., & Kusmiati. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Sarang Semut (*Hydnophytum formicarum* Jack) dengan Metode ABTS dan Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan LC-MS Antioxidant. *Jurnal Archives Pharmacia*, 2(1), 43–54.
- Arista, M. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Calyptra*, 2(2), 1–16.
- Basito. (2011). Efektivitas Penambahan Etanol 95% dengan Variasi Asam dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, IV(2), 84–93.
- Berawi, K. N., & Marini, D. (2018). Efektivitas Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai Antioksidan. *J Agromedicine*, 5(1), 412–417.
- Burhan, A., Aisyah, A. N., Awaluddin, A., Zulham, Z., Taebe, B., & Gafur, A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Batang Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Sel Kanker Widr Secara in Vitro. *Kartika : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(1), 17. <https://doi.org/10.26874/kjif.v7i1.173>
- Damanis, F. V. M., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania momus* dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*, 9(3), 464–469. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30033>
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta:

- Departement Kesehatan Republik Indonesia. *Edisi IV*, 9–11, 16.
- Dia, S. P. S., Nurjanah, & Jacob, A. M. (2015). Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 205–219. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.2.205>
- Djamaluddin, R. (2018). *Mangrove, Biologi, Ekologi, Rehabilitasi, dan Konservasi*. Manado: Unsrat Press.
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Faiqoh, M., Utami, T. F. Y., & Pertiwi, Y. (2020). Uji Antioksidan Sediaan Stick Balm Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 2(01), 51–58. <https://doi.org/10.46772/jophus.v2i01.277>
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode DPPH (1, 1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3 Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid). *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2 (1), 1–5.
- Fitriani, N., & Laode Rijai, H. (2019). Antioksidan Ekstrak Daun Sumpit (*Brucea javanica* (L. Merr) dengan Metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 57–62.
- Hanapi, A., Fasya, G. A., & Syakuro, A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Metanol Daun dan Akar Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*) dengan Metode DPPH. *Journal Of Chemistry*, 7, 20–24.
- Haryoto, H., & Frista, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) dengan Metode DPPH dan FRAP. *J. Sains Kes. 2019*, 2(2), 131–138.
- Ikhrar, M. S., Yudistira, A., & Wewengkang, D. S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa* sp. dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmakon*, 8(4), 961. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29376>

- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750>
- Irianti, T. T., Sugiyanto, Nuranto, S., & Kuswandi. (2017). *Antioksidan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press. hlm 66 dan 67.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Jumawardi, R., Ananto, A. D., & Deccati, R. F. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) Menggunakan Metode Ekstraksi Berbasis Gelombang Ultrasonic. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(2), 80–86. <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i2.85>
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Lady, D., Handoyo, Y., Eko, M., Program, P., Farmasi, S., & Kesehatan, I. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54.
- Latif, R. A., Mustapa, M. A., & Duengo, S. (2018). Analisis Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol Kulit Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Seminar Nasional Farmasi Universitas Negeri Gorontalo*, 435–448.
- Mardiansyah, & Bahri, S. (2016). Potensi Tumbuhan Mangrove Sebagai Obat Alami Antimikroba Patogen. *Sainstech Farma*, 9(1), 25–29.
- Muaja, M. G. D., Runtuwene, M. R. J., & Kamu, V. S. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dari Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 68. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15614>
- Muthmainnah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 6(2), 5–9.
- Nst, S. L. A., Sutri, R., & Iriany. (2015). Pembuatan Etil Asetat dari Hasil Hidrolisis, Fermentasi dan Esterifikasi Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca*

- L.). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(1), 1–6.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v4i1.1439>
- Nugroho, A. (2017). *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–93. <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*, 3(1), 24. <https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i1.8230>
- Puspitasari, A. D., Susanti, E., & Khustiana, A. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Menggunakan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(2), 99–104. <https://doi.org/10.26877/jitek.v5i2.4591>
- Putri, M. K. D., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2012). Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) terhadap Larva *Artemia salina*. *Diponegoro Journal of Marine Research*, 1(2), 58–66.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Journal Pharmacoon*, 09(4), 56–59.
- Ramalingam, V., & Rajaram, R. (2018). *Enhanced antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of Rhizophora apiculata: An experimental report*. 3 *Biotech*, 8(4), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1222-2>
- Rante, T. R. K., Simbala, H. E. I., & Mansauda, K. L. R. (2020). Skrining Fitokimia dan Potensi Antioksidan dari Ekstrak Daun Tumbuhan Ekor Tikus (*Stachytarpheta jamaicensis* L) dengan Metode 1.1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal MIPA*, 9(2), 91. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.29000>
- Ridlo, A., Pramesti, R., Koesoemadji, K., Supriyantini, E., & Soenardjo, N. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*, 6(2), 110.

<https://doi.org/10.14710/buloma.v6i2.16555>

- Sami, F. J., & Rahimah, S. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107–110. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.179>
- Saputri, A. P., Augustina, I., & Fatmaria. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 8(1), 973–980. <https://doi.org/10.37304/jkupr.v8i1.1502>
- Savitri, I., L. Suhendra, & N. M. Wartini. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut pada Metode Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 93–101.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L). *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Subagiyo, Haryanti, D., & Wijayanti, D. P. (2022). *Mengenal Mangrove*. Semarang: Universitas Diponegoro Press.
- Tutik, Dwipayana, I. N. A., & Elsyana, V. (2018). Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 1(2), 80–87.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review. *Farmaka*, 16(2), 419–429.

Yulia, W., & Leilani, I. (2019). Populasi *Rhizophora apiculata* BI Di Hutan Mangrove Teluk Buo Padang Sumatera Barat. 6(3), 1–6.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi



DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH
 (Directorate of Scientific Collection Management)
BADAN RISET DAN INOVASI NASIONAL
 Jl. Raya Jakarta – Bogor Km. 46, Cibinong 16911, Indonesia
 Email: inacc@brin.go.id Website: www.brin.go.id

Nomor : B-974/IV/DI.05.07/04/2022
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

8 April 2022

Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). **Fatimah Azzahrah**
 Institut Sains dan Teknologi Nasional

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Bakau Minyak	<i>Rhizophora apiculata</i> Blume	Rhizophoraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

PtL. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah
 Badan Riset dan Inovasi Nasional

 TT ELEKTRONIK

Dr. Ir. Hendro Wicaksono, M.Sc., Eng

Lampiran 2. Perhitungan Rendeman Ekstrak

a. Ekstrak Etanol 96%

- **Ulangan-1**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 16,49

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{16,49 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,99 \% \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 16,44

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{16,44 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,96 \% \end{aligned}$$

- **Ulangan-3**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 16,46

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{16,46 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,97\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata rendeman ekstrak} &= \frac{10,99 + 10,96 + 10,97}{3} \\ &= 10,97\% \end{aligned}$$

b. Ekstrak Metanol

- **Ulangan-1**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 22,67

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{22,67 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 15,11 \% \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 22,76

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{22,76 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 15,17 \%\end{aligned}$$

- **Ulangan-3**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 22,73

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{22,73 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 15,15\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata rendemen ekstrak} &= \frac{15,11 + 15,17 + 15,15}{3} \\ &= 15,14 \%\end{aligned}$$

c. Ekstrak Etil Asetat

- **Ulangan-1**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 4,07

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{4,07 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,71 \%\end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

Berat Serbuk = 150

Berat Ekstrak = 4,09

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{4,09 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,73 \%\end{aligned}$$

- **Ulangan-3**




Berat Serbuk = 150




Berat Ekstrak = 4,04

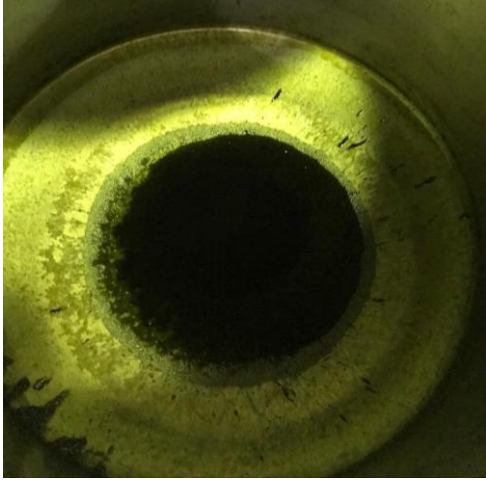

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{4,04 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,69\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata rendeman ekstrak} &= \frac{2,71 + 2,73 + 2,69}{3} \\ &= 2,71\%\end{aligned}$$





Lampiran 3. Proses Ekstraksi Sampai Menjadi Ekstrak



No	Gambar	Keterangan
1.		<p>Serbuk Simplisia Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>
2.		<p>Proses Maserasi dan Penyarian Ekstrak Etanol 96% Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>
3.		<p>Proses Maserasi dan Penyarian Ekstrak Metanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>

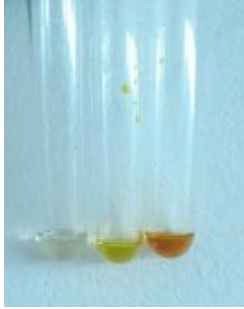

4.	 Three glass beakers are shown on a laboratory bench. Each beaker contains a dark, opaque liquid. The beakers are labeled with handwritten text: 'EKSTRAKSI MANGROVE (ETIL ASETAT)' and the number '2'. The background shows a laboratory setting with a window and some equipment.	<p>Proses Maserasi dan Penyarian Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>
5.	 A large industrial evaporator system is shown. It consists of two main stainless steel vessels connected by pipes. The larger vessel on the left has a dome-shaped top and various gauges and valves. The smaller vessel on the right is a vertical cylindrical tank. The equipment is mounted on a metal base.	<p>Proses Evaporasi Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>
6.	 A circular tray or dish is shown, containing a dark, circular residue in the center. The residue is surrounded by a lighter, yellowish-green material. The tray is illuminated from above, creating a strong shadow in the center.	<p>Ekstrak Etanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>

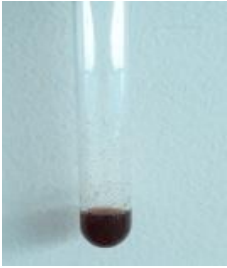



7.		<p>Ekstrak Metanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>
8.		<p>Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>)</p>

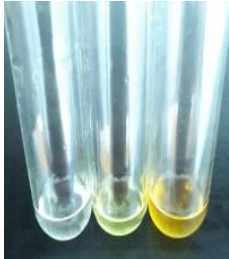

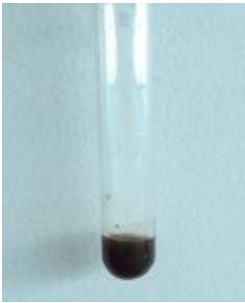

Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia



Senyawa	Gambar
	Sampel Daun Mangrove Kacangan
Alkaloid (-)	
Fenolik (+)	
Flavonoid (+)	
Tanin (+)	


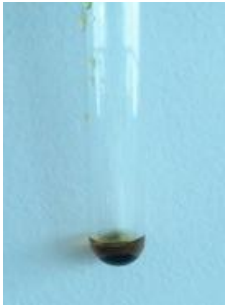
Steroid/Triterpenoid (-)	
Saponin (-)	


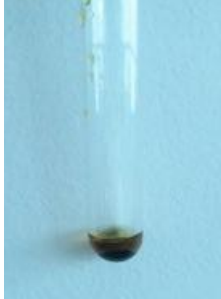
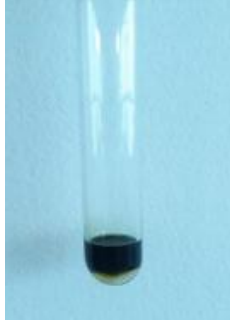

Senyawa	Gambar
	Ekstrak Etanol 96%
Alkaloid (-)	
Fenolik (+)	

Flavonoid (-)	
Tanin (+)	
Steroid/Triterpenoid (+)	
Saponin (+)	

Senyawa	Gambar
	Ekstrak Metanol
Alkaloid (-)	
Fenolik (+)	
Flavonoid (-)	
Tanin (+)	

Steroid/Triterpenoid (+)	
Saponin (+)	

Senyawa	Gambar
	Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid (-)	
Fenolik (+)	

Flavonoid (-)	
Tanin (+)	
Steroid/Triterpenoid (-)	
Saponin (-)	

Lampiran 5. Sertifikat ABTS

Sigma-Aldrich

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

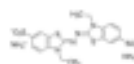
Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurotechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt - ≥98% (HPLC)

Product Number: A1888
 Batch Number: SLCH3887
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 30931-67-0
 MDL Number: MFCD00010404
 Formula: C18H24N6O6S4
 Formula Weight: 548.68 g/mol
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 17 SEP 2020
 Recommended Re-test Date: SEP 2024



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Faint Green to Green and Light Green-Yellow to Dark Green-Yellow	Green-Yellow
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Very Faint Green to Green to Green-Yellow	Green
Solubility (Turbidity)	Clear to Slightly Hazy	Clear
10 mg/mL, H2O		
Suitability	Suitable	Suitable
Suitable as a reagent for peroxidase		
Water (by Karl Fischer)	≤ 2 %	2 %
Purity (HPLC)	≥ 98 %	100 %
¹³ C NMR Identity	Conforms to Structure	Conforms
Proton NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms

Brian Dulle, Supervisor
 Quality Assurance
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



Version Number: 1

Page 1 of 1

Lampiran 6. Sertifikat Vitamin C



Certificate of Analysis Vitamin C

Product Name: Vitamin C

Catalog Number: S3114

Batch Number: S311401

Physical and chemical properties

Molecular Formula: C₆H₈O₆

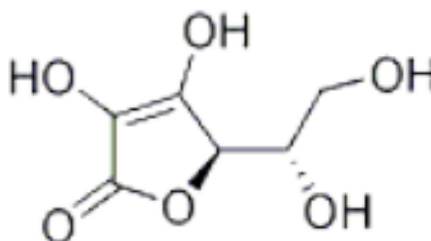
Molecular Weight: 176.12

CAS No.: 50-81-7

Stability: 3 years -20°C powder

2 years -80°C in solvent

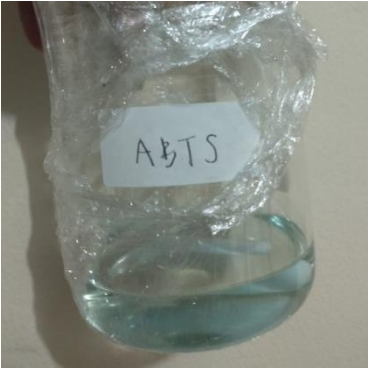
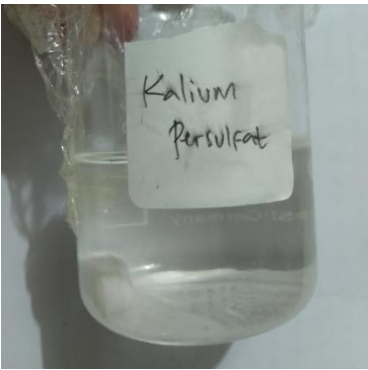


Molecular Structure:





Analytical data

HPLC: 99.94% purity | NMR: Consistent with structure

Lampiran 7. Proses Uji Aktivitas Antioksidan

No	Gambar	Keterangan
1.		Larutan ABTS
2.		Larutan Kalium Persulfat
3.		Vitamin C (Larutan Pembanding)
4.		Larutan Ekstrak Etanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>) + Larutan Stok ABTS

5.	 <p>A photograph showing six test tubes in a wooden rack. The tubes contain clear, colorless liquids. A white label with the word 'blank' is attached to the top of the first tube. The background is a white surface.</p>	<p>Larutan Ekstrak Metanol Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>) + Larutan Stok ABTS</p>
6.	 <p>A photograph showing six test tubes in a wooden rack. The tubes contain light green, slightly turbid liquids. A white label with the word 'blank' is attached to the top of the first tube. The background is a white surface.</p>	<p>Larutan Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove (<i>Rhizophora apiculata</i>) + Larutan Stok ABTS</p>

Lampiran 8. Hasil Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

Perhitungan Nilai IC₅₀

a. Ekstrak Etanol 96%

- **Ulangan-1**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0896) \ln x + 0,3113 \\ 0,19 &= (0,0896) \ln x \\ \ln x &= 2,106027 \\ x &= 8,215 \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0862) \ln x + 0,3323 \\ 0,17 &= (0,0862) \ln x \\ \ln x &= 1,945476 \\ x &= 6,997 \end{aligned}$$

- **Ulangan-3**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,1295) \ln x + 0,2553 \\ 0,24 &= (0,1295) \ln x \\ \ln x &= 1,889575 \\ x &= 6,617 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{8,215 + 6,997 + 6,617}{3} = 7,276 \text{ ppm}$$

b. Ekstrak Metanol

- **Ulangan-1**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0579) \ln x + 0,398 \\ 0,10 &= (0,0579) \ln x \\ \ln x &= 1,761658 \\ x &= 5,822 \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0541) \ln x + 0,4055 \\ 0,09 &= (0,541) \ln x \\ \ln x &= 1,746765 \\ x &= 5,736 \end{aligned}$$

- **Ulangan-3**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0655) \ln x + 0,3885 \\ 0,11 &= (0,0655) \ln x \\ \ln x &= 1,70229 \\ x &= 5,487 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{5,822 + 5,736 + 5,487}{3} = 5,682 \text{ ppm}$$

c. Ekstrak Etil Asetat

- **Ulangan-1**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0448) \ln x + 0,3397 \\ 0,16 &= (0,0448) \ln x \\ \ln x &= 3,57813 \\ x &= 35,806 \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0588) \ln x + 0,2995 \\ 0,20 &= (0,0588) \ln x \\ \ln x &= 3,40986 \\ x &= 30,261 \end{aligned}$$

- **Ulangan-3**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0678) \ln x + 0,2634 \\ 0,24 &= (0,0678) \ln x \\ \ln x &= 3,48968 \\ x &= 32,775 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{35,806 + 30,261 + 32,775}{3} = 32,947 \text{ ppm}$$

d. Vitamin C

- **Ulangan-1**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0969) \ln x + 0,4581 \\ 0,04 &= (0,0969) \ln x \\ \ln x &= 0,432405 \\ x &= 1,541 \end{aligned}$$

- **Ulangan-2**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,0948) \ln x + 0,48 \\ 0,02 &= (0,0948) \ln x \\ \ln x &= 0,21097 \\ x &= 1,235 \end{aligned}$$

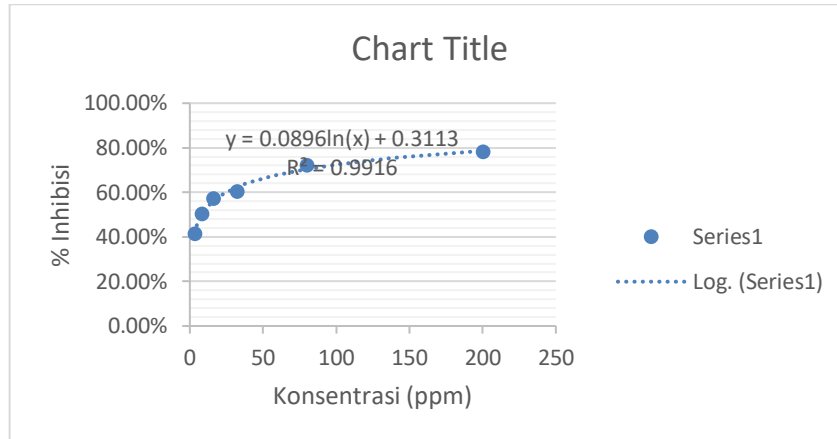
- **Ulangan-3**

$$\begin{aligned} y &= a \ln x + b \\ 50\% &= (0,091) \ln x + 0,4837 \\ 0,02 &= (0,091) \ln x \\ \ln x &= 0,179121 \\ x &= 1,196 \end{aligned}$$

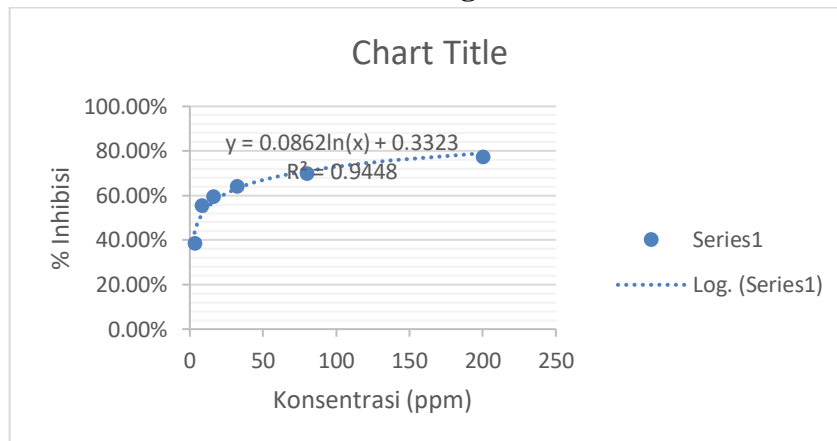
$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{1,541 + 1,235 + 1,196}{3} = 1,324 \text{ ppm}$$

Gambar Kurva Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

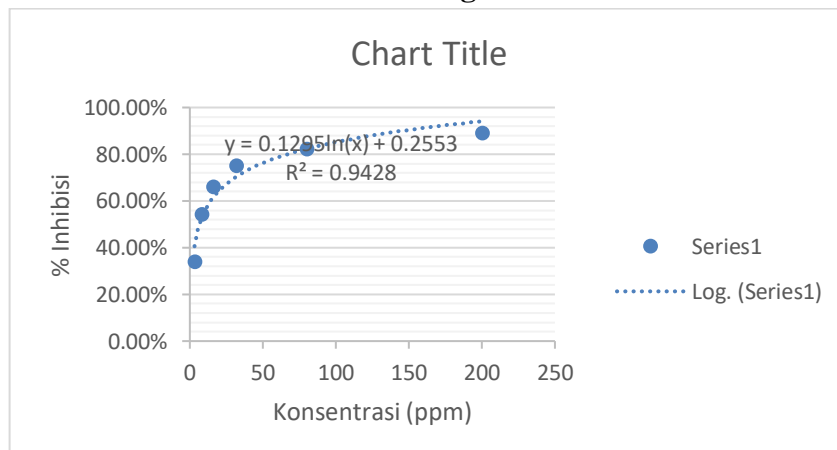
1. Kurva Ekstrak Etanol 96% Ulangan-1



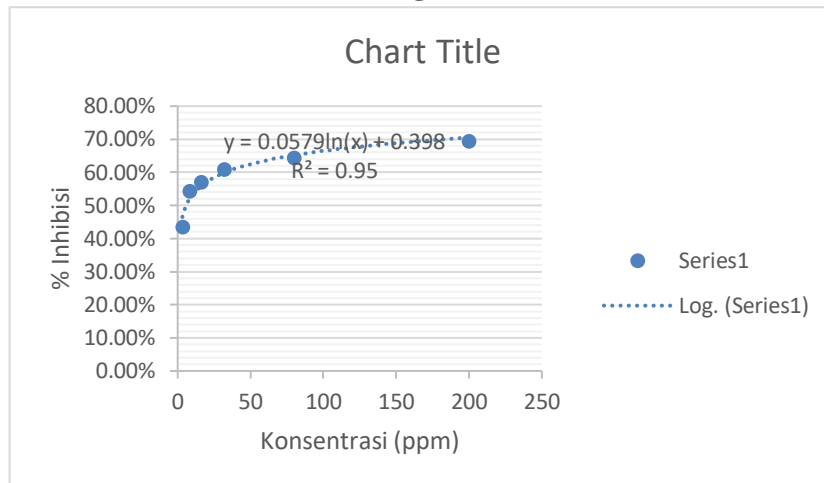
2. Kurva Ekstrak Etanol 96% Ulangan-2



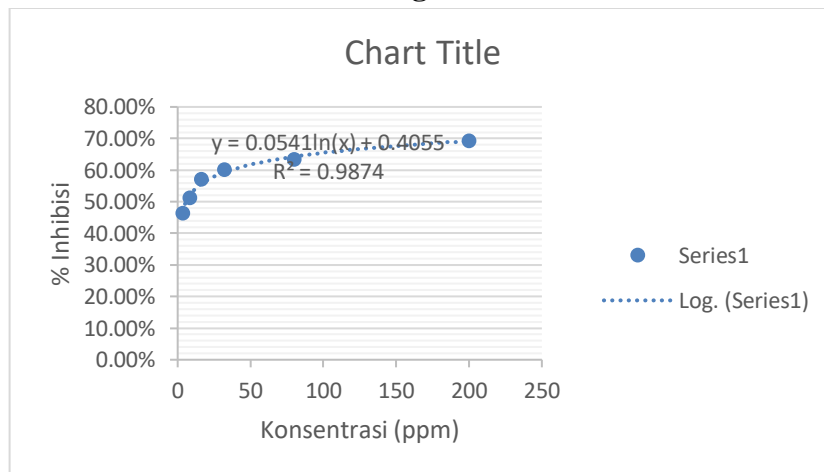
3. Kurva Ekstrak Etanol 96% Ulangan-3



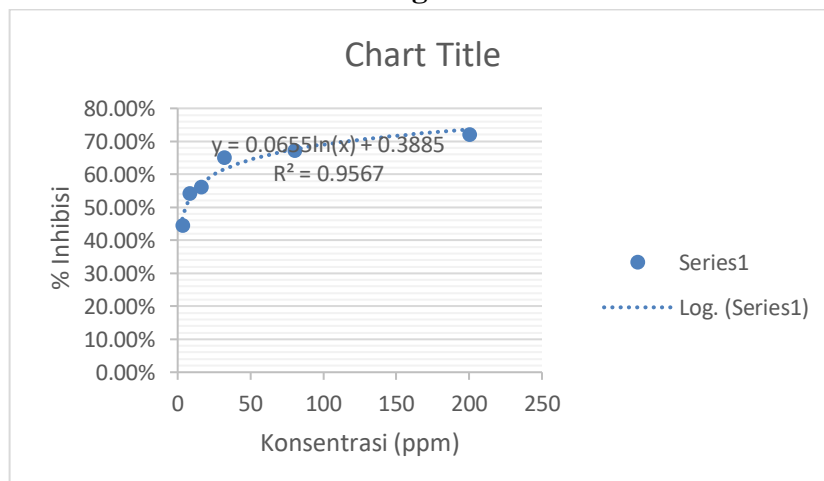
4. Kurva Ekstrak Metanol Ulangan-1



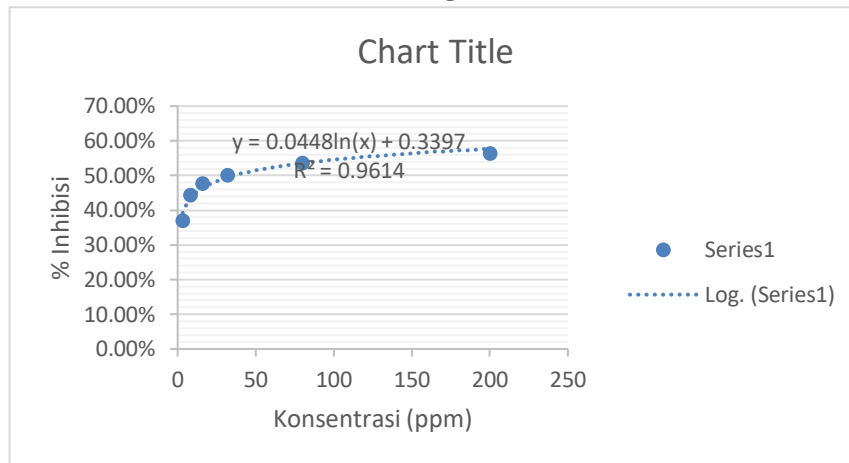
5. Kurva Ekstrak Metanol Ulangan-2



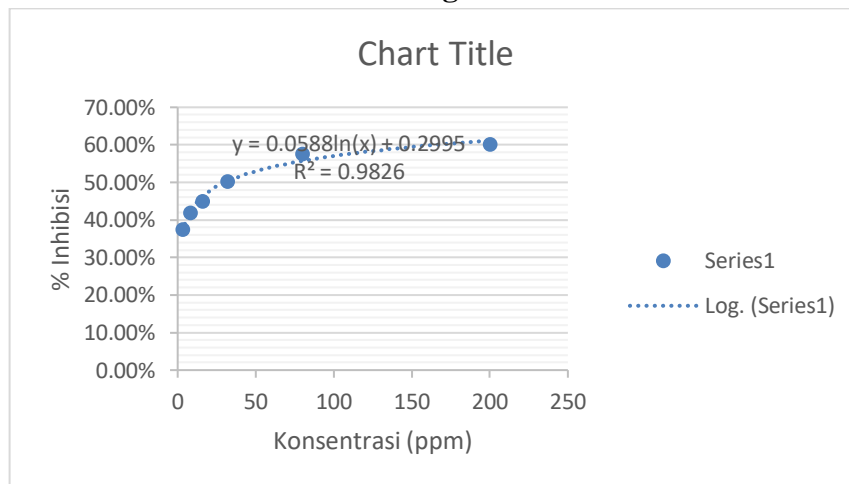
6. Kurva Ekstrak Metanol Ulangan-3



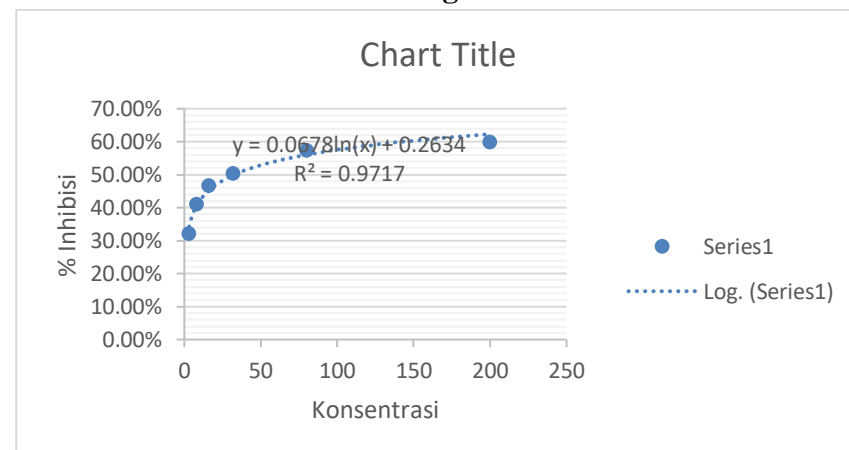
7. Kurva Ekstrak Etil Asetat Ulangan-1



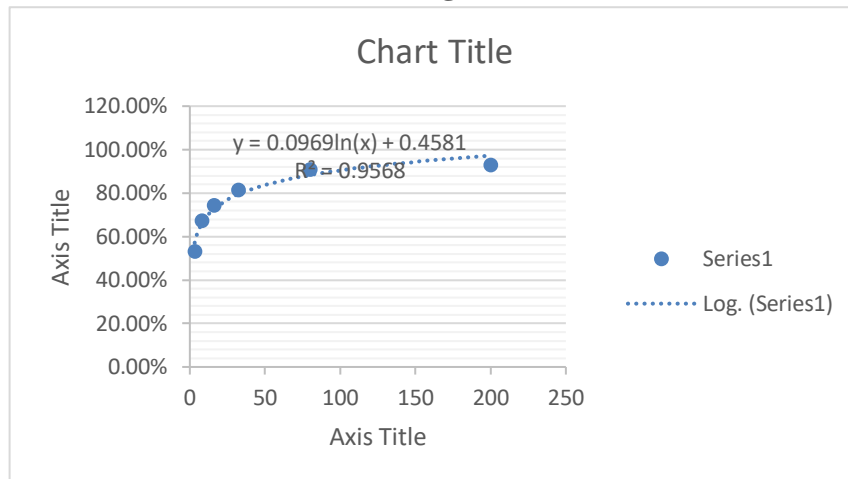
8. Kurva Ekstrak Etil Asetat Ulangan-2



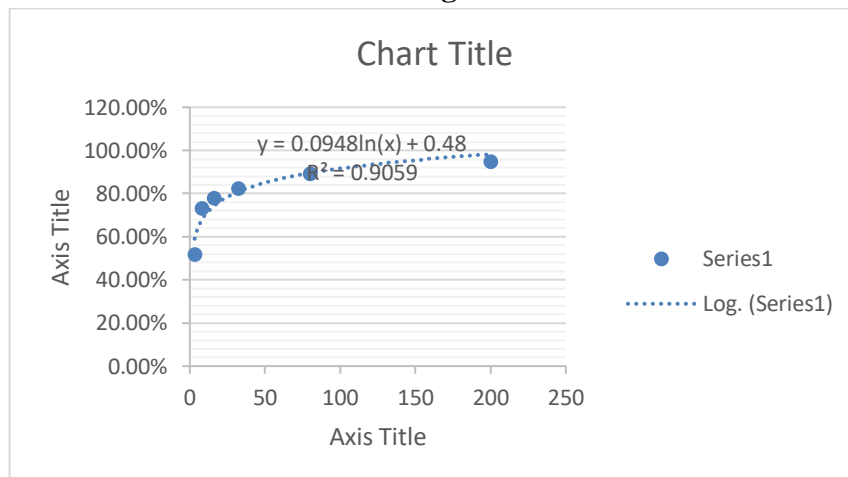
9. Kurva Ekstrak Etil Asetat Ulangan-3



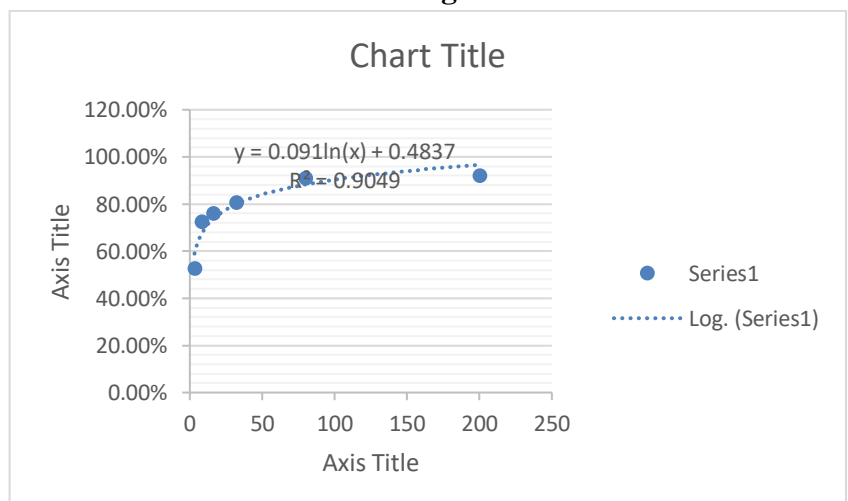
10. Kurva Ekstrak Vitamin C Ulangan-1



11. Kurva Ekstrak Vitamin C Ulangan-2

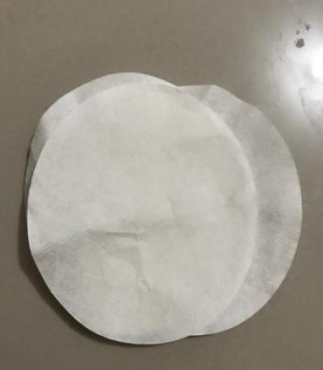






12. Kurva Ekstrak Vitamin C Ulangan-3






Lampiran 9. Alat Dan Bahan

		
<p>Etanol 96%</p>	<p>Magnetic Stirrer</p>	<p><i>Rotary Vacuum Evaporator</i></p>
		
<p>Alumunium Voil, Kertas Wrap</p>	<p>Methanol</p>	<p>Ethanol p.a</p>
		
<p>Botol Kaca Gelap</p>	<p>Bahan : Vitamin C, Kalium Persulfat, ABTS</p>	<p>Etil Asetat</p>


		
<p>Kertas Saring</p>	<p>Timbangan Analitik</p>	<p>Mikropipet</p>

	
<p>Alat : Gelas Ukur, Beaker Glass, Erlenmeyer dan Labu Ukur</p>	<p>Alat : Spatula, Pipet Tetes, Batang Pengaduk dan Corong Kaca</p>

 A white vortex mixer with a grey top and a control panel on the front. The control panel features a large dial and a power button. The brand name 'LAB' is visible on the top left of the control panel.	 A white and black UV-Vis spectrophotometer. It has a large black front panel and a white top section. The brand name 'HACH' is visible on the front panel.	 A wooden test tube rack holding five glass test tubes. The rack is made of light-colored wood and has a simple, functional design.
Vortex Mixer	Spektrofotometri UV-Vis	Tabung Reaksi

 A white plastic bottle of distilled water. The word 'Aquadest' is handwritten in black ink on the front of the bottle.	 A black plastic spoon with a long handle and a rounded bowl. It is lying on a light-colored surface.	 Three glass graduated pipettes of different sizes, lying on a light-colored surface. They have markings on the glass and rubber bulbs at the top.
Aquadest	Sendok Taduk	Pipet Ukur

Lampiran 10. Sertifikat Etanol



Certificate of Analysis

1.00983.2500 Ethanol absolute for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur
Batch #1157183

	Spec. Values		Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99.9	%	99.9	%
Identity (IR)	conforms		conforms	
Appearance	conforms		conforms	
Color	≤ 10	Hazen	< 5	Hazen
Solubility in water	conforms		conforms	
Acidity or alkalinity	≤ 30	ppm	≤ 30	ppm
Titration acid	≤ 0.0002	meq/g	0.0001	meq/g
Titration base	≤ 0.0002	meq/g	< 0.0002	meq/g
Density (d 20 °C/20 °C)	0.790 - 0.793		0.791	
UV absorption	conforms		conforms	
Aldehydes (as Acetaldehyd)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Fixed oils	conforms		conforms	
Substances reducing potassium permanganate (as O)	≤ 0.0002	%	< 0.0002	%
Substances reducing permanganate (ACS)	conforms		conforms	
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.000	%	≤ 0.000	%
Refractily-irritant substances	conforms		conforms	
Acetone, Isopropyl Alcohol (ACS)	conforms		conforms	
Acetone (GC)	≤ 0.001	%	< 0.001	%
Ethylmethylketone (GC)	< 0.02	%	< 0.01	%
Isamyl alcohol (GC)	≤ 0.06	%	< 0.01	%
2-Propanol (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Higher alcohols (GC)	< 0.01	%	< 0.01	%
Volatile impurities (GC) (Acetaldehyde and Acetal)	≤ 30	ppm	< 10	ppm
Volatile impurities (GC) (Benzene)	≤ 2	ppm	< 1	ppm
Volatile impurities (GC) (Methanol)	≤ 500	ppm	< 50	ppm
Volatile impurities (GC) (Total of other impurities)	≤ 300	ppm	< 100	ppm
Volatile impurities (GC) (olefin limit)	≤ 9	ppm	9	ppm
Chloride (Cl)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Nitrate (NO ₃)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Phosphate (PO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Sulfate (SO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Ag (Silver)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
As (Arsenic)	≤ 0.000002	%	< 0.000002	%
Au (Gold)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%	< 0.00001	%
Ba (Barium)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Bi (Bismuth)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Cd (Cadmium)	< 0.00001	%	≤ 0.00005	%

Merk KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
480 Forest Drive, Billerica, MA 01823, USA, Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 2



**ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOL
EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias
curassavica* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

NAMA : REEDY MAYA KARIM

NPM : 17334038

PROGRAM STUDI

FAKULTAS FARMASI

INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

JAKARTA

Maret 2022



**ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOL
EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias
curassavica* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

NAMA : HEIDY MAYA KARIM

NPM : 17334008

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

JAKARTA

Maret 2022

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujukan telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Heidy Maya Karim

NPM : 17334008

Tanggal : 25 Maret 2022



(Heidy Maya Karim)

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Heidy Maya Karim

NPM : 17334008

Mahasiswa : S1 Farmasi

Tahun Akademik : 2021/2022

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias curassavica* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH.

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian Surat Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, 25 Maret 2022



(Heidy Maya Karim)



**ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOL EKSTRAK ETANOL
DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias curassavica* L.) MENGGUNAKAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi**

Nama Mahasiswa : Heidy Maya Karim

Nomor Pokok : 17334008

Disetujui Oleh :

Pembimbing Skripsi

**Prof. Dr. Amlius Thalib.
Dosen Pembimbing I**

**Munawarohthus Sholikha, S.Si, M.Si.
Dosen Pembimbing II**

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Heidy Maya Karim

NPM : 17334008

Program Studi : S1 Farmasi

Judul Skripsi : ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOLEKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias curassavica* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

DEWAN PENGUJI

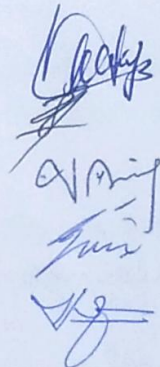
Pembimbing 1 : Prof. Dr. Amlius Thalib

Pembimbing 2 : Munawarohthus Sholikha, M.Si

Penguji 1 : Dr. apt. Dra. Subaryanti, M. Si

Penguji 2 : apt. Erwi Putri Setyaningsih, M. Si

Penguji 3 : Saiful Bahri, S.Si.,M. Si



Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 25 Maret 2022

KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya yang diberikannya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul Analisis Antioksidan dan Uji Total Fenol Ekstrak Etanol Daun Kembang Mas (*Asclepias curassavica* L.) Menggunakan Metode DPPH tepat pada waktu yang telah ditentukan. Tidak lupa sholawat dan salam yang dipanjatkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW atas kelancaran proses penelitian ini. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

Kedua Orang Tua, Ibu dan Bapak tercinta yang selalu memberi semangat dan pelukan hangat disetiap situasi. Seluruh anggota keluarga yang selalu memberikan doa, nasihat serta dukungan baik secara moril maupun materil kepada penulis demi penyelesaian Skripsi ini. Skripsi ini dipersembahkan untuk kalian semua, orang – orang yang penulis cintai.

Penulis juga menyadari selama penyusunan skripsi ini hingga selesai tidak lain karena banyak dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis turut mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Prof. Dr. Amlius Thalib. dan Ibu Munawarohthus Sholikha, M.Si selaku dosen pembimbing Skripsi yang telah banyak memberikan masukan dan saran kepada penulis selama penulis menyusun Skripsi ini;
2. Ibu Dr. apt. Lili Musnelina, M.Si. selaku Rektor Institut Sains dan Teknologi Nasional;
3. Ibu Dr. apt. Refdanita, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional;
4. Ibu apt. Yayah Siti Djuhariah, M.Farm selaku Kepala Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional;
5. Ibu apt. Amelia Febriani, S.Farm.,Msi selaku Pembimbing Akademik, Institut Sains dan Teknologi Nasional;

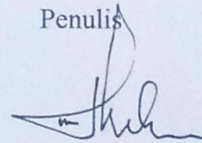
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Institut Sains dan Teknologi Nasional, yang telah memberikan ilmu dan pengalaman berharga demi kelangsungan penyusunan skripsi ini;
7. Seluruh teman-teman mahasiswa Fakultas Farmasi, Institut Teknologi Nasional angkatan 2017, atas dukungan dan kebersamaannya selama ini yang memudahkan penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini;
8. Seluruh pihak yang membantu dalam proses pemikiran dan penulisan baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu persatu dalam menyelesaikan Skripsi ini.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis memahami bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, baik dalam isi maupun tata penulisannya. Hal ini karena, kurangnya pengetahuan serta pengalaman penulis. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan masukan dan saran dari berbagai pihak yang sifatnya membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Demikian yang dapat penulis sampaikan, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan dapat menjadi sumber rujukan untuk penulisan skripsi selanjutnya.

Jakarta, 25 Maret 2022

Penulis



Heidi Maya Karim

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

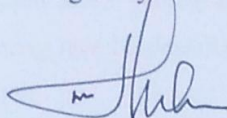
Sebagai sivitas akademika Institut Sains dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan di bawah ini: Nama : Heidy Maya Karim NPM : 17334008 Program Studi : Farmasi Fakultas : Farmasi Jenis karya : Skripsi demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Nonexclusive Royalty- Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul : Analisis Antioksidan dan Uji Total Fenol Ekstrak Etanol Daun Kembang Mas (*Asclepias curassavica* L.) Menggunakan Metode DPPH beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalih media/format- kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*) *soft copy* dan *hard copy*, merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 25 Maret 2022

Yang menyatakan



(Heidy Maya Karim)

ABSTRAK

Nama : Heidy Maya Karim
Program Studi : Farmasi
Judul : ANALISIS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOTAL FENOL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG MAS (*Asclepias curassavica* L.) MENGGUNAKAN METODE DPPH.

Daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat antioksidan. Penelitian skrining fitokimia, penetapan kadar total fenol dan uji aktivitas antioksidan telah dilakukan terhadap ekstrak etanol (96%) daun kembang mas. Skrining fitokimia, meliputi identifikasi golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Penetapan kadar total fenol dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Folin-Ciocalteau dan dinyatakan dalam besaran satuan massa ekivalen asam galat per bobot sampel. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Prinsip metode DPPH yaitu penurunan intensitas absorbansi larutan DPPH sebanding dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan dan kapasitas antioksidan sampel uji didasarkan pada nilai IC_{50} . Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun kembang mas positif mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Kadar total fenol ekstrak etanol 96% daun kembang mas didapat = 20,43 mg ekivalen asam galat/gram ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kembang mas berdasarkan nilai IC_{50} diperoleh = 248,78 ppm, menunjukkan kategori sangat lemah.

Kata kunci: Kembang Mas, DPPH, Total Fenol, IC_{50} , Skrining Fitokimia.

ABSTRACT

Name : Heidy Maya Karim
Study Program : Pharmacy
Title : ANTIOXIDANT ANALYSIS AND TEST OF TOTAL PHENOL ETHANOL EXTRACT LEAF OF KEMBANG MAS (*Asclepias curassavica* L.) USING DPPH METHOD.

Kembang mas leaf (*Asclepias curassavica* L.) contains secondary metabolites that are antioxidants. Phytochemical screening studies, determination of total phenol levels and antioxidant activity tests have been carried out on the ethanol extract (96%) of kembang mas leaf. Phytochemical screening, including identification of groups of alkaloids, flavonoids and saponins. Determination of total phenol content was carried out by colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent and expressed in the equivalent mass unit of gallic acid per sample weight. Antioxidant activity was tested by DPPH method. The principle of the DPPH method is that the decrease in the absorbance intensity of the DPPH solution is proportional to the increase in the concentration of antioxidant compounds and the antioxidant capacity of the test sample is based on the IC_{50} . The results of the phytochemical screening showed that the 96% ethanol extract of the kembang mas leaf positive for flavonoid and saponin compounds. Total phenol content of ethanol extract 96% of flower mas leaves was obtained = 20.43 mg gallic acid equivalent/gram extract. Antioxidant activity of 96% ethanol extract of kembang mas leaf based on IC_{50} value was obtained = 248.78 ppm, indicating a very weak category.

Keywords: Kembang Mas, DPPH, Total Phenol, IC_{50} , Phytochemical Screening.

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR ISI TABEL DAN GAMBAR.....	xiv
DAFTAR ISI LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang	1
2. Rumusan Masalah	4
3. Tujuan Penelitian	4
4. Manfaat Penelitian	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Uraian Tumbuhan.....	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.2 Anatomi dan Morfologi Tumbuhan.....	6
2.3 Ekstraksi	7
2.3.1 Metode Ekstraksi	7
2.4 Senyawa Fenolik	9

2.5 Senyawa Flavonoid	10
2.6 Radikal Bebas.....	11
2.7 Antioksidan.....	12
2.8 Metode Pengukuran Antioksidan	15
2.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	15
2.10 Spektrofotometri UV- Visible	16
2.11 Pengukuran Absorbansi-Panjang Gelombang.....	17
2.12 Metode Folin-Ciocalteu.....	18
BAB III.....	20
METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1. Jenis Penelitian	20
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.1 Tempat Penelitian	20
3.2.2 Waktu Penelitian.....	20
3.3 Alat dan Bahan	21
3.4 Pembuatan Ekstrak	21
3.5. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Spektrofotometer UV-Visibel (Bondet, et al, 1997).....	22
3.5.1 Penentuan Aktivitas DPPH.....	22
3.5.2 Pembuatan Larutan Uji.....	22
3.5.3 Penentuan Nilai IC ₅₀	23
3.6 Skrining Fitokimia.....	23
3.6.1 Pemeriksaan Flavonoid.....	23
3.6.2 Pemeriksaan Alkaloid.....	23
3.6.3 Pemeriksaan Saponin.....	24
3.7 Penetapan Kandungan Fenol Total dengan Metode Folin-Ciocalteu.....	24

a. Pembuatan Larutan Na ₂ CO ₃ 20%	25
b. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (1000 ppm).....	25
3.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Reagen Folin-Ciocalteu .	25
BAB IV	27
HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Hasil Determinasi Tanaman	27
4.2 Hasil Skrining Fitokimia	27
4.3 Ekstraksi	28
4.3 Hasil Analisis Nilai IC ₅₀	31
4.4 Hasil Penetapan Kadar Total Fenol.....	32
BAB V.....	35
KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR ISI TABEL DAN GAMBAR

Gambar 2.1 Daun, dan Bunga Kembang Mas (<i>Asclepias curassavica</i> L.) (Karim, H.M, 2021).....	5
Gambar 2.4 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan.....	16
Gambar 4.1 Kurva Regresi Linier.....	30
Gambar 4.2 Kurva Standar Asam Galat.....	33
Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun kembang mas (<i>Asclepias curassavica</i> L.).....	28
Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Kembang Mas (<i>Asclepias curassavica</i> L.).....	29
Tabel 4.3 Hasil Uji Antioksidan dengan 2 Kali Pengulangan.....	29
Tabel 4.4 Nilai Total Fenol.....	33
Tabel 4.5 Nilai Absorbansi Asam Galat.....	45
Tabel 4.6 Total Fenol.....	45
Tabel 4.7. Hasil Perhitungan Total Fenol.....	58

DAFTAR ISI LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	42
Lampiran 2. Hasil Laporan Uji	44
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Kembang Mas..	48
Lampiran 4. Persentase Inhibisi Ekstrak Etanol 96% Daun Kembang Mas	50
Lampiran 5. IC ₅₀	52
Lampiran 6. Perhitungan konsentrasi fenolik dalam larutan ekstrak yang setara dengan konsentrasi asam galat	53
Lampiran 7. Perhitungan Tabel 5.....	56
Lampiran 8. Standar Deviasi.....	57

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut. Kerusakan sel karena radikal bebas menjadi faktor utama terjadinya proses penuaan dini dan berbagai penyakit kronis, katarak, liver, jantung koroner, dan diabetes. Kerusakan yang disebabkan radikal bebas nyatanya dapat dihambat dengan senyawa antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2005). Radikal bebas yang dihasilkan secara berkelanjutan selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pencetus timbulnya penyakit degeneratif (Juniarti et al, 2009).

Antioksidan dapat menyumbangkan elektronnya kepada radikal bebas, serta dapat menstabilkan radikal bebas, sehingga senyawa tersebut menjadi tidak reaktif lagi. Antioksidan itu sendiri merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan yang mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Isnindar et al, 2011). Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetis dan alami, namun sering kali muncul kekhawatiran terhadap efek samping yang timbul dari antioksidan sintetis, dan hal itu yang menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif terpilih. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan oleh radikal bebas, dapat menghambat penyakit degeneratif, serta menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Diketahui bahwa tumbuhan merupakan sumber antioksidan alami dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar pada banyak bagian tumbuhan baik pada kayu, daun, biji, buah, bunga, serbuk sari, dan akar (Sunarni, et al., 2007 ; Putra, et al., 2010).

Kembang mas atau yang dikenal dengan tanaman kapas cinde (*Asclepias Curassavica* L.). Potensi tanaman ini masih belum banyak diketahui di Indonesia, tanaman ini mempunyai kandungan senyawa kimia yaitu, glikosida jantung atau glikosida steroid, dan getahnya mengandung senyawa flavonoid (Roy, M.c et al., 2005 ; Zhang, R.R. et al., 2014). Aktivitas antioksidan tanaman kembang mas sebelumnya telah dibuktikan dengan menggunakan pelarut heksana, kloroform dan

methanol. Pengukuran dilakukan secara *in vitro* dan persentase aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada ketiga pelarut nilai tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak dengan pelarut kloroform (Das. S., Naidu. K.C dan Venkateswara Rao. V., 2014). Ekstrak etanol tanaman ini dilaporkan mengandung banyak aktivitas farmakologis termasuk analgesik, antipiretik, antikanker, antimikroba, anti-inflamasi, aktivitas sitotoksik, aktivitas antioksidan efek stimulan rahim, dan banyak aktivitas farmakologis lainnya (Sundararajan, R., 2014). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida merupakan kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny,2006).

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor & Artanti, 2014; Tremel & Smejkal, 2016). Fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai ciri yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap *spectrum* UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana yaitu orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogolol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987).

Metode penelitian antioksidan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa radikal bebas. Beberapa metode yang digunakan untuk menghambat radikal bebas yaitu metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen, et al., 2002). ABTS (*2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*) merupakan metode pengujian untuk

mengukur jumlah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi (Serlahwaty D. dan Sevian A.N., 2016). Metode CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*) pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah dibanding metode yang lain (Widyastuti, 2010). Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrihidrazil*) mengukur daya rendaman sampel terhadap radikal bebas DPPH. DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa perendaman radikal bebas membentuk DPPH yang stabil. Senyawa perendaman radikal bebas yang bereaksi dengan DPPH akan menjadi radikal bebas baru yang lebih stabil (Poppy A.H, 2017).

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Kemampuan antioksidan suatu senyawa dalam memerangkap radikal DPPH dilihat dari kemampuan senyawa antioksidan untuk mendonorkan hidrogen. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron (Koleva I.I., et al., 2002). Antioksidan alami yang terkandung pada tanaman yaitu senyawa polifenol, karotenoid, dan vitamin. Antioksidan ini memiliki berbagai efek farmakologis seperti anti-inflamasi, antikanker, antibakteri, dan antivirus (Saxena, Saxena, & Pradhan, 2012; Xu et al., 2017).

Metode yang menjadi pilihan dalam penentuan total fenolik adalah Metode Folin-Ciocalteu merupakan metode umum sebagai standar karena merupakan metode yang cepat, dan sederhana yang dinyatakan sebagai massa ekuivalen asam galat tiap sampel (Fu, L. et al., 2011). Prinsip metode ini antara lain reaksi oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi Folin- Ciocalteu yang menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang berada didalam sampel (Blainski, et al., 2013). Berdasarkan uraian penjelasan diatas, maka dilakukan penelitian secara kuantitatif untuk mengetahui kadar antioksidan, total fenol, serta skrining fitokimia secara kualitatif seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin terhadap

senyawa yang terkandung dalam daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.).

2. Rumusan Masalah

Berdasarkan dengan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dapat dirumuskan permasalahan:

- a. Apakah ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) berpotensi sebagai antioksidan?
- b. Apakah ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias Curassavica* L.) mengandung senyawa fenolik?

3. Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) berpotensi sebagai antioksidan.
- b. Untuk mengetahui adanya aktivitas total fenol ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.).

4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memiliki nilai manfaat dari daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.), dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengembangan obat-obatan alami sebagai pencegahan dan terapi terhadap berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Dapat membantu masyarakat memahami tentang khasiat dari tumbuhan terutama bagian daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.), membantu proses pemanfaatannya dalam perkembangan potensi obat herbal dimasa yang akan datang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan



Gambar 2.1 Daun, dan Bunga Kembang Mas (*Asclepias curassavica* L.) (Karim, H.M, 2021)

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Subkelas	:	Asteridae
Ordo	:	Gentianales
Family	:	Apocynaceae
Genus	:	<i>Asclepias</i>
Spesies	:	<i>Asclepias curassavica</i> (L.) Kuntze

2.2 Anatomi dan Morfologi Tumbuhan

Kembang mas merupakan salah satu jenis flora yang termasuk dalam keluarga flora biduri-bidurian (*Asclepiadaceae*), merupakan salah satu dari lima sub keluarga yang termasuk dalam *Apocynaceae* tersebar di Amerika Utara dan Selatan (Kamel, E.A.R et al., 2014 ; Juarez-Jaimes, V. et al., 2007). Termasuk dalam tanaman keras herba, diameter batang sampai 9 desimeter, daun menyempit dan meruncing di ujung daun, panjangnya 13-15 cm. Bentuk bunga kembang mas beragam terdiri dari 10-20 bunga. Warna bunga kembang mas yaitu merah pada bagian kelopak luarnya serta kuning pada bagian dalam bunganya, berbunga sepanjang tahun dengan ukuran 5-10 cm. Buah kembang mas berbentuk elips ramping menyerupai torpedo. Termasuk kedalam tanaman dikotil karena memiliki biji berkeping dua, dan biji tanaman kembang mas berwarna coklat yang berbentuk lingkaran telur dan mempunyai ukuran panjang 6-7 mm. Budidaya kembang mas ini berkembang biaknya dengan cara semai biji. Habitat tanaman kembang mas berada pada kawasan tropis padang rumput, tanah tandus dan sepanjang pinggir jalan pada ketinggian dari permukaan maritim hingga lebih dari 1.500 meter.

Tanaman kembang mas merupakan salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat yang sangat tinggi, digunakan dalam pengobatan pembengkakan, memar, luka, borok kulit, dan batuk kronis. Secara internal, digunakan untuk mengobati diare, disentri, dan rematik kronis (Mary, S.M.K, Mahesh, M.K 2014). Secara umum tanaman *Asclepiadaceae* adalah sumber sitotoksik, glikosida jantung, resinoid (galitoxin). Prinsip toksik pada spesies beracun ditemukan digetah susu yang berasal dari batangnya. Beberapa glikosida (glikosida jantung) dan alkaloid telah diisolasi. Akar ekstrak tanaman ini banyak digunakan di Amerika Selatan sebagai obat muntah dan pencahar, rebusan tanaman digunakan sebagai aborsi. Bagian akarnya dikenal sebagai akar radang selaput dada digunakan sebagai ekspektoran untuk pneumonia, masalah paru-paru, digunakan untuk mengobati kutil, demam, dll (Endress M.E, and Bruyns, P.V, 2000). Tanaman ini anti-ovulasi, astringen, kardiotonik dan digunakan untuk tumor perut, pendarahan, dan sakit kepala. Tanaman ini mengandung polihidroksi teresterifikasi yang sangat potensial glikosida hamil yang menunjukkan sifat

antitumor dan antikanker (Kinghom A.D., 2001).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat, untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi secara dingin. Metode ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat termolabil. Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya.

Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat serta tujuan ekstraksi itu sendiri. Penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas antimikroba (Marjoni, 2016).

2.3.1 Metode Ekstraksi

Beberapa metode ekstraksi yang umum dibagi menjadi dua yaitu : ekstraksi secara dingin dan panas (Ditjen POM, 2000). Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat di dalam simplisia yang tidak bisa bertahan terhadap panas dan atau bersifat termolabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini :

- a. Maserasi, yaitu proses ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia kedalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar serta terlindung dari cahaya. Maserasi termasuk ke dalam ekstraksi dengan prinsip pencapaian keseimbangan konsentrasi (Depkes RI, 2000)
- b. Perkolasi, yaitu proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara berkelanjutan pada simplisia selama kurun waktu tertentu.

Metode ekstraksi panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya:

- a. Seduhan merupakan metoda ekstraksi paling sederhana hanya dengan cara merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu yaitu 5-10 menit. Kualitas air berpengaruh terhadap kualitas seduhan. Air yang bagus adalah air dari pegunungan (Marjoni, 2016).
- b. Coque atau dikenal dengan penggodokan merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hanya hasil godokannya saja tanpa ampas yang tentunya disaring lebih dahulu.
- c. Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Panaskan campuran di atas penangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu 90°C sambil sesekali diaduk. Saring selagi panas menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki.
- d. Digestasi yaitu proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan cara maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu $30-40^{\circ}\text{C}$. Metoda ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

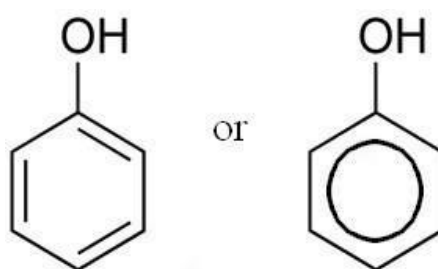
- e. Dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metoda infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90⁰C.
- f. Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor).
- g. Sokletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soklet. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan suhu pada metoda refluks (Ditjen POM, 2000).

2.4 Senyawa Fenolik

Fenolik atau polifenol adalah salah satu dari kelompok senyawa yang terpenting yang terdapat dalam tumbuhan. Polifenol merupakan produk hasil dari metabolisme sekunder tumbuhan. Istilah fenolik atau polifenol dapat diartikan sebagai suatu senyawa yang memiliki sebuah cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil yang dapat berpindah, dan juga merupakan suatu substansi bioaktif yang terkandung dalam makanan yang berasal dari tumbuhan (Yuslianti, 2018).

Fenol memiliki peran sebagai *scavenger* (pemakan) radikal peroksil karena fenol sendiri memiliki struktur molekul yang penting yaitu cincin aromatik dan gugus hidroksil yang mengandung atom hidrogen yang dapat berpindah. Selain hal tersebut, kemampuan dari fenol juga diketahui dapat mengurangi dampak negatif dari adanya radikal bebas melalui pembentukan *chelate* dengan ion-ion yang umumnya memiliki valensi dua seperti logam Cu, Fe, Zn, dan Mn yang dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Yuslianti, 2018).

Senyawa fenol merupakan salah satu senyawa yang terdistribusi pada bagian tumbuhan dengan kadar yang berbeda pada setiap bagian tumbuhannya, yang juga banyak terdistribusi di daun. Fenol yang tersebar dalam tumbuhan biasanya digunakan untuk menangkal radikal bebas. Senyawa fenol cenderung larut dalam air, umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel (Lestari et al., 2018).

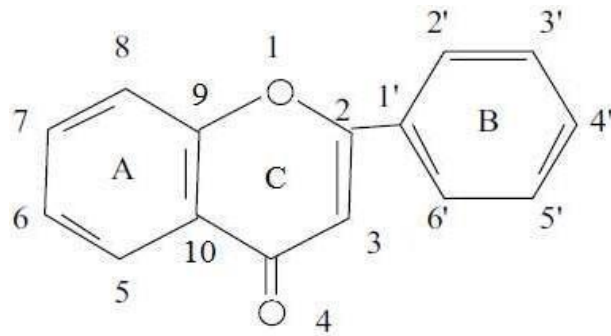


Gambar 2.2 Struktur Dasar Fenol (Riswiyanto, 2010)

2.5 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kandungan khas dalam tumbuhan hijau, kecuali alga dan hornwort. Senyawa ini sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti akar, daun, kulit, kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah buni, dan biji (Markham, 1988). Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang berasal dari golongan flavonol yang paling banyak terdapat di alam. Kuersetin sebagai antioksidan dipercaya dapat melindungi tubuh dari penyakit seperti penyakit degeneratif, dengan cara mencegah peroksidasi lemak. Senyawa kuersetin mampu mencegah terjadinya oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam tubuh dengan menangkap radikal bebas dan menghelat ion-ion logam transisi (Yuslianti, 2018).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Senyawa ini ditemukan dalam tanaman yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, *orange*, biru, dan ungu dari buah, bunga, dan daun. Serta termasuk dalam keluarga polifenol yang larut dalam air (Arifin dan Sanusi, 2018).



Gambar 2.3 struktur dasar flavonoid

2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki elektron dengan jumlah yang ganjil. Karena jumlah elektron ganjil, maka tidak semua elektron dapat berpasangan. Meskipun suatu radikal bebas tidak bermuatan 14 positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas biasanya dijumpai sebagai zat antara yang tak dapat diisolasi dan berenergi tinggi (Fessenden, 1982).

Radikal bebas sangat berbahaya karena dapat mencuri elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan sangat mudah menyerang sel-sel yang sehat di dalam tubuh. Radikal bebas dapat dihasilkan dari metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok. Hasil penyinaran ultraviolet, zat kimia dalam makanan dan polutan lain (Hutahaean, 2011).

Menurut Panjaitan et al., (2011) Reaksi perusakan oleh radikal bebas dimulai dalam tekanan oksidatif (*Oxidative stress*), dimana tingkat oksigen intermediet (*Reactive Oxygen Intermediate: ROI*) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen, keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas terjadi pada proses berikut:

a. Peroksidasi Lemak

Dimana terjadi kerusakan pada membran sel yang kaya akan sumber *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi; proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak, hal ini sangat merusak karena merupakan suatu proses berkelanjutan, dimana pemecahan hidroperoksida lemak, sering melibatkan katalisis ion logam transisi.

b. Kerusakan Protein

Dimana protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi jika radikal tersebut mampu terakumulasi, atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam 15 protein, salah satu penyebab kerusakan adalah, jika protein berikatan dengan ion logam transisi.

c. Kerusakan DNA

Kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada delesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi, radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk di sekitar DNA seperti pada radiasi biologis.

2.7 Antioksidan

Antioksidan merupakan komponen yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh reaktif oksigen spesies seperti oksigen singlet, superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, dan peroksi nitrit. Antioksidan dapat mencegah dampak negatif yang diakibatkan oleh radikal bebas. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal atau dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Antioksidan dalam makanan memainkan peranan penting sebagai faktor untuk melindungi kesehatan pada tubuh. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa antioksidan mengurangi resiko penyakit kronis termasuk kanker. Sumber utama alami antioksidan adalah biji-bijian, buah-buahan dan sayuran. Tanaman bersumber antioksidan seperti vitamin C dan E, karoten, asam fenolik, fitat, dan fitoestrogen telah diakui memiliki potensi untuk mengurangi resiko penyakit. Beberapa senyawa seperti asam galat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat sementara yang lain seperti mono fenol memiliki aktivitas antioksidan yang lemah (Prakash, 2001).

Menurut Winarsi (2007), berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu :

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer disebut sebagai antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Enzim-enzim tersebut berfungsi sebagai antioksidan menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutus reaksi berantai, kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan dalam kelompok ini disebut chain-breaking-antioxidant.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan dalam kelompok ini juga disebut sebagai sistem pertahanan preventif. Sistem pertahanan ini yaitu terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu

dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya sehingga tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

Antioksidan non-enzimatik dapat berupa antioksidan alami maupun sintesis. Senyawa antioksidan alami pada umumnya berupa vitamin C dan E, karotenoid, 17 senyawa fenolik dan polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuomarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Sebagai contoh, vitamin C memiliki sifat antioksidan yang baik sehingga dapat berperan dalam menghambat oksidasi yang berlebihan dalam tubuh serta meningkatkan sistem imun tubuh (Ramadhan, 2015).

c. Antioksidan Tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang diakibatkan oleh radikal bebas dapat dicirikan dengan terjadi kerusakan pada rusaknya single dan double strand baik gugus yang bersifat non-basa maupun yang bersifat basa. Penyebab terjadinya penyakit degeneratif diawali dengan terjadinya kerusakan pada oksidatif DNA mitokondria yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2007).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu:

a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami adalah antioksidan yang merupakan hasil dari ekstraksi bahan alami. Antioksidan alami dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan yang ada pada kehidupan dan sekitar kita, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan., yaitu pada buah-buahan, sayur-sayuran, ekstrak tanaman herbal, *superoxide dismutase (SOD)*, katalase, dan *glutathione peroxidase (GSH)*.

b. Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan yang diizinkan penggunaannya untuk makanan yang telah sering digunakan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), tokoferol, asam askorbat, dan butil hidroksi toluen (BHT) (Ramadhan, 2015).

2.8 Metode Pengukuran Antioksidan

Ada sejumlah besar metode untuk menentukan kapasitas antioksidan berdasarkan prinsip yang berbeda: pengumpulan radikal peroksil (*Oxygen Radical Absorbance capacity, ORAC*); *Total Radical-trapping Antioxidant Power (TRAP)*; daya pereduksi logam (*Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP*); *Cupric Reducing Antioxidant Power (CUPRAC)*; pengumpulan radikal hidroksil (uji deoxyribose); pengumpulan radikal organik (2,2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid, (ABTS); 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dan lain-lain (Marinova dan Batchvarov, 2011).

2.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu uji yang dapat dilakukan untuk menentukan potensi antioksidan suatu senyawa adalah dengan menguji kemampuannya dalam meredam senyawa radikal DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Gurav et al., 2007). DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil.

Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari 19 DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm akan hilang jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Perubahan ini dapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh

mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Visibel biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Visibel mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Sebagai sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak. Panjang gelombang dari sumber cahaya akan dibagi oleh pemisah panjang gelombang (wavelength separator) seperti prisma atau monokromator. Spektrum didapatkan dengan cara scanning oleh wavelength separator sedangkan pengukuran kuantitatif bisa dibuat dari spektrum atau pada panjang gelombang tertentu (Dachriyanus, 2004). Absorbansi merupakan banyaknya jumlah cahaya atau energi radiasi yang diserap oleh partikel yang terdapat dalam larutan. Besarnya absorbansi dinyatakan dalam hukum Lambert-Beer. Hukum tersebut menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya tampak, sinar ultraviolet, dan cahaya-cahaya lain diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan (Gandhimathi R, et al.,2012).

2.11 Pengukuran Absorbansi-Panjang Gelombang

Metode pengukuran menggunakan prinsip spektrofotometri berdasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan yang mengandung kontaminan yang akan ditentukan konsentrasinya. Prinsip kerja metode ini yaitu, jumlah cahaya yang diabsorpsi oleh larutan sebanding dengan konsentrasi kontaminan dalam larutan (Lestari,2009). Panjang gelombang maksimum (λ maks) yang digunakan dalam pengukuran sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur panjang gelombang maksimum untuk DPPH antara lain 515-520 nm. Bagaimanapun dalam praktiknya hasil pengukuran yang memberikan peak maksimum itulah panjang gelombangnya yaitu sekitar panjang gelombang yang disebutkan diatas. Nilai absorbansi yang mutlak tidaklah penting,

karena panjang gelombang dapat diatur untuk memberikan absorbansi maksimum sesuai dengan alat yang digunakan (Molyneux, 2004).

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu:

- a. Pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
- b. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi yang terjadi yaitu berbentuk datar dan pada kondisi tersebut maka hukum Lambert-Beer akan terpenuhi.
- c. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal (Gandjar, 2008)

2.12 Metode Folin-Ciocalteu

Kandungan fenolik total dalam suatu sampel dapat diukur dengan cara kolorimetri dengan metode Folin-Ciocalteu dan dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat (Jasson, 2005). Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat, dan bromin (Nurhayati, Siadi, dan Herjono, 2012). Metode ini merupakan metode yang sederhana, sensitif, dan teliti yang terjadi dalam suasana basa sehingga dalam penentuan kadar fenolik dengan pereaksi Folin-Ciocalteu digunakan natrium karbonat yang bertujuan untuk membentuk suasana basa (Prior, Wu, dan Schaich, 2005)

Prinsip dasar metode ini adalah oksidasi gugus fenolik-hidroksil, yang mengoksidasi fenolat serta mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks

molybdeum-tungsten (Mo-W).selama reaksi ini berlangsung gugus fenolik-hidroksil akan bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru (Jasson, 2005). Warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan semakin pekat setara dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat pada larutan uji dan memiliki serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm (Blainski, 2013).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional untuk mengetahui aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan uji total fenol menggunakan ekstrak etanol 96%. Metodologi penelitian ini meliputi pembuatan ekstrak etanol daun kembang mas.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium :

- a. Laboratorium Bidang Botani dan Bidang Mikrobiologi, LIPI Cibinong Jawa Barat.

Alamat : Jl. Raya Jakarta – Bogor No. km 46.

- b. BALITTRO (Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat)

Alamat : Jl. Tentara Pelajar No.3, RT.04/RW.15, Menteng, Kec. Kota, RT.04/RW.15, Menteng, Kec. Bogor Bar., Kota Bogor, Jawa Barat 16111

- c. Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, IPB Bogor Jawa Barat.

Alamat : Kampus IPB Taman Kencana, Jl. Taman Kencana No. 3, Bogor, RT.03/RW.03, Babakan, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor, Jawa Barat 16128

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2021 sampai November 2021.

3.3 Alat dan Bahan

a. Alat-alat yang digunakan :

alat – alat gelas, spektrofotometer UV-Vis (Biotek Epoch Microplate 6-384 Plates), pipet, timbangan, micropipet, *rotary evaporator*, kertas saring, plat tetes, batang pengaduk, botol coklat, kuvet, lampu spiritus, penyangga pembakar spiritus, dan thermometer.

b. Bahan-bahan :

Daun kembang mas, aquadestilata, etanol p.a, etanol 96%, 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), natrium karbonat (Na_2CO_3) 20%, reagen Meyer, reagen Wagner, reagen Dragondroff, amil alkohol, HCl pekat, HCl 2N, Magnesium, dan reagen Folin-Ciocalteau (sigma), dan asam galat (Merck).

3.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol daun kembang mas dilakukan dengan cara maserasi, yaitu dengan perbandingan bahan dan pelarut (etanol 96%) 1:10. Daun kembang mas sebanyak 200 gram direndam dalam etanol 96% sebanyak 2000 ml dan didiamkan selama 2 x 24 jam, sampel diaduk setiap 1 X 24 jam selama 15 menit dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*). Larutan ekstrak disaring menggunakan vakum dan kertas saring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Residu yang diperoleh kembali dimaserasi dengan pelarut dan perlakuan yang sama sebanyak 2 kali (Ibrahim et al., 2014). Kemudian disaring dan meserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Spektrofotometer UV-Visibel (Bondet, et al, 1997)

3.5.1 Penentuan Aktivitas DPPH

- a. Pembuatan Larutan Baku Induk DPPH Konsentrasi 1000 ppm
DPPH ditimbang 100 mg. Kemudian dilarutkan dengan etanol 96% p.a hingga 1000 mL (Molyneux, 2004). Dalam labu terukur dan ditempatkan kedalam botol gelap. Cukupkan pelarutnya sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Larutan diinkubasi diruangan gelap selama 45 menit.
- b. Pembuatan Larutan Baku Kerja DPPH Konsentrasi 500 ppm
Dari larutan baku induk DPPH 1000 ppm, dipipet sebanyak 50 ml dimasukkan dalam labu terukur 100 ml dan ditambahkan etanol 96 % sampai batas yang ditentukan kocok sampai homogen.
- c. Pengukuran Absorbansi DPPH
Larutan DPPH 500 ppm dipipet sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 2 ml etanol 96 %, dikocok dan didiamkan selama 45 menit dimasukkan kedalam kuvet dan diamati dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.2 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak kental daun kembang mas ditimbang dan dibuat dengan konsentrasi dan kemudian diambil 0,0625 ml; 0,125 ml; 0,25 ml; 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; dan 4 ml masing-masing dari larutan ekstrak daun kembang mas mengandung konsentrasi 62,5 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 ; 400 ppm, masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 2 ml larutan DPPH. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi selama 45 menit dalam ruang tanpa cahaya. Kemampuan antioksidan diukur penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel (Bondet, et al, 1997). Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak dihitung sebagai persentase aktivitas antioksidan dengan rumus :

$$\% \text{ Aktivitas inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - \text{sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

A kontrol : absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel : absorbansi sampel

3.5.3 Penentuan Nilai IC₅₀

Konsentrasi sampel dan persentase inhibisi masing – masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing – masing sampel dinyatakan nilai y sebesar 50 dari nilai x yang akan diperoleh sebagai nilai IC₅₀.

3.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang diuji dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% daun kembang mas, meliputi pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin.

3.6.1 Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak etanol 96% daun kembang mas sebanyak 3 ml kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI., 1995).

3.6.2 Pemeriksaan Alkaloid

Sampel uji ditimbang sebanyak 3 ml, kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 6 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai sebagai :

- a. Diambil filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning,
- b. Diambil filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan,
- c. Diambil filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman. Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada dua dari tiga pereaksi di atas (Depkes RI., 1995).

3.6.3 Pemeriksaan Saponin

Ekstrak etanol 96% daun kembang mas ditimbang sebanyak 3 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 ml aquadest, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI., 1995).

3.7 Penetapan Kandungan Fenol Total dengan Metode Folin-Ciocalteu

Ekstrak etanol daun kembang mas ditimbang sebanyak 0,2 ml ditambahkan 15,8 ml aquades dan ditambahkan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 4 ml Na₂CO₃ 20% kedalam tabung reaksi tersebut. Lalu didiamkan selama 1 jam pada suhu kamar hingga terbentuk warna biru, dan diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm . Kadar fenol yang diperoleh merupakan ekuivalen asam galat/gram sampel (Orak, H.H. 2007). Kadar total fenol daun kembang mas dihitung menggunakan substitusi nilai-nilai absorbansi rata-rata sampel kedalam persamaan regresi linier yang didapat dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya. Nilai konsentrasi sampel yang didapat kemudian disubstitusikan kembali kedalam rumus perhitungan kadar total fenol :

$$\text{Kadar Total Fenol} = \frac{x.V.FP}{BS}$$

Keterangan :

x = Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (L)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (gram)

Kadar total fenol disajikan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/gram sampel (mg GAE/g).

a. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 20%

Sebanyak 20 gram Na_2CO_3 ditambah 80 ml air suling, kemudian dididihkan sampai serbuk Na_2CO_3 larut sempurna. Setelah itu diamkan selama 24 jam, disaring dan diencerkan dengan air suling sampai volume 100,0 ml (Murtijaya dan Lim, 2007).

b. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (1000 ppm)

Pembuatan larutan induk asam galat (1 mg/mL). Ditimbang 100 mg asam galat tambahkan etanol 96 % sampai dengan 1000 mL, (Murtijaya dan Lim, 2007).

3.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Reagen Folin-Ciocalteu

Larutan baku standar yang dibuat tersebut, dipipet dan dimasukkan kedalam labu terukur 10 mL dengan konsentrasi masing-masing, 0,15625 mL; 0,3125 mL; 0,625 mL; 1,25 mL; 2,5 mL; dan 5 mL, lalu ditambahkan etanol sampai batas kalibrasi. Didapatkan larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing konsentrasi tersebut dipipet sebanyak 0,2 ml ditambahkan 15,8ml akuades dan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu setelah itu, dikocok sampai homogen dan terbentuk larutan yang berwarna jernih kekuningan. Kemudian larutan tersebut didiamkan selama 10 menit, ditambahkan larutan Na_2CO_3 20% dan dikocok sampai homogen. Kemudian larutan tersebut

didiamkan lagi pada suhu kamar selama 60 menit atau 1 jam sampai terbentuk warna biru. Serapan larutan tersebut diukur dengan panjang gelombang 765 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi (Alfian et al, 2013).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Determinasi Tanaman

Langkah pertama untuk melakukan penelitian menggunakan sampel berupa tanaman baik bagian akar, batang, daun, bunga dan buah disebut juga determinasi tanaman. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui dan memastikan tentang kebenaran dan kepastian identitas daun kembang mas yang akan digunakan dalam penelitian ini, serta untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam proses pengambilan sampel daun kembang mas. Hasil dari determinasi yang diuji di Laboratorium Bidang Botani dan Bidang Mikrobiologi, LIPI Cibinong (Lampiran I) telah dibuktikan bahwa daun yang akan digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini berasal dari tanaman kembang mas (*Asclepias curassavica* L.).

4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder. Analisis fitokimia menunjukkan jumlah metabolit sekunder yang cukup besar pada tanaman kembang mas, metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, senyawa fenolik, dan glikosida ditemukan secara beragam dalam ekstrak tumbuhan. Senyawa fenolik yang merupakan metabolit sekunder tanaman, dengan aktivitas berbeda seperti perlindungan terhadap patogen dan predator, dukungan mekanis, dan daya tarik hewan penyerbuk, dan perlindungan terhadap radiasi ultraviolet. Potensi terapeutik dari flavonoid ini telah ditemukan dan diketahui memiliki sifat farmakologis dan biokimia yaitu antibakteri, antivirus, anti alergi, vasodilatasi, dan aktivitas anti-inflamasi terhadap enzim siklo oksigenase dan lipoksigenase (Mohan, T.J, et al., 2019).

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol 96% daun kembang mas (*Asclepias Curassavica* L.) diketahui bahwa daun kembang mas (*Asclepias Curassavica* L.) mengandung senyawa-senyawa kimia seperti positif mengandung flavonoid, dan saponin namun menunjukkan hasil negatif pada pengujian alkaloid yang terlihat pada tabel 4.1 dibawah ini.

Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.).

No	Pemeriksaan		Hasil
1	Flavonoid		+
2	Alkaloid	Wagner	-
		Meyer	-
		Dragendorf	-
3	Saponin		+

4.3 Ekstraksi

Pada penelitian ini metode yang dipilih yaitu metode maserasi, tujuan dipilihnya metode maserasi karena pada umumnya senyawa aktif dalam tanaman tidak tahan pemanasan sehingga dipilih ekstraksi dengan cara dingin (Suharto et al., 2016). Keuntungan menggunakan metode maserasi yaitu, proses ini tanpa pemanasan sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman ekstrak dapat menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perubahan tekanan dari dalam dan luar sel sehingga metabolit sekunder yang terjadi pada sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan lebih sempurna, cukup sederhana, mudah dilakukan, jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit dan proses ekstraksinya lebih cepat (Novitasari dan Putri, 2016).

Proses pembuatan ekstrak etanol 96% daun kembang mas dilakukan dengan cara daun kembang mas dicuci terlebih dahulu dan kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari secara tidak langsung dan ditutup kain berwarna hitam. Sebanyak 200 gram simplisia daun kembang mas yang sudah dikeringkan direndam ke dalam pelarut etanol 96% selama 2 x 24 jam dan diaduk setiap 1 x 24 jam selama 15 menit dengan *shaker* yang berkecepatan 120 rpm. Setelah 2 x 24 jam larutan ekstrak disaring dengan menggunakan vakum dan kertas saring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Residu yang diperoleh Kembali

dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dan dengan waktu yang sama sebanyak 2 kali, hasil residu tersebut disaring dan maserat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Maka diperoleh hasil yang dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Kembang Mas (*Asclepias curassavica* L.)

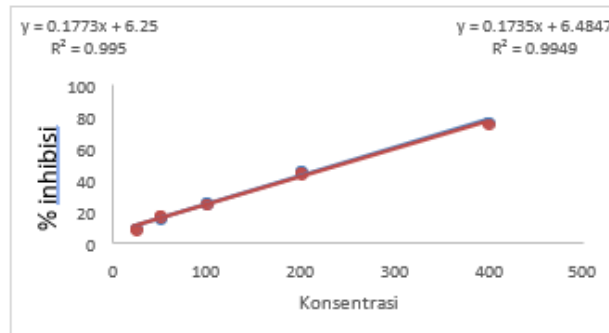
Bobot simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen	Karakteristik		
			Bentuk	Warna	Bau
200 gram	48,7 gram	24,35%	Kental	Hijau Tua	Khas

Tabel 4.3 Hasil Uji Antioksidan dengan 2 Kali Pengulangan

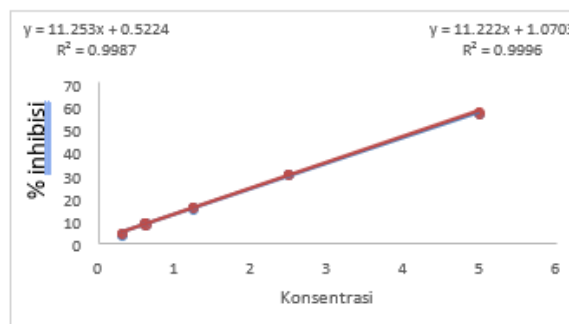
% inhibisi Ekstrak Etanol 96 % Daun Kembang Mas (*Asclepias curassavica* L.)

Sample	Konsentrasi	Rerata	IC50
	ug/ml	% Inhibisi	
Ekstrak Daun Kembang Mas	400	75,17605	248,78
	200	44,19015	
	100	24,11975	
	50	15,669	
	25	8,62675	
	0		

Gambar 4.1 Kurva Regresi Linier



c. Ekstrak etanol 96% daun kembang mas



d. Asam askorbat

Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol 96% daun kembang mas memiliki aktivitas antioksidan terlihat pada bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu setelah disemprot dengan larutan DPPH. Larutan DPPH berwarna ungu akan berubah menjadi kuning dan bening karena senyawa yang diuji mengandung antioksidan yang kuat. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi antara senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak etanol dengan molekul DPPH, sehingga mengakibatkan molekul DPPH tereduksi membentuk DPPH-H (Budilaksono et al., 2014).

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH dalam larutan metanol sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning dengan nilai IC_{50} konsentrasi sampel uji yang memerangkap radikal bebas 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux 2004). Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH yaitu adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding

dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas yang tidak mempunyai pasangan memberikan warna ungu, warna tersebut akan berubah menjadi kuning ketika elektronnya berpasangan. Perubahan ini terjadi karena adanya perendaman radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan molekul senyawa sampel dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna ini memberikan perubahan absorbansi panjang gelombang maksimum DPPH saat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga dapat diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (Muthia. R, et al., 2019). Dalam penelitian dilakukan uji aktivitas dengan pengulangan sebanyak 2 kali, selanjutnya dilakukan perhitungan standar deviasi untuk mengetahui penyimpangan dari penelitian yang dilakukan. Nilai standar deviasi yang didapatkan dari hasil perhitungan rata – rata % inhibisi adalah 11,946. Nilai standar deviasi ini lebih rendah dari nilai rata – rata (*mean*) % inhibisi yaitu 237,480 maka data penelitian dapat dikatakan memiliki representasi data yang baik. Hasil pengujian % inhibisi DPPH pada larutan ekstrak kental daun kembang mas dapat dilihat pada Tabel 4.3. Penjabaran perhitungan perendaman DPPH dapat dilihat pada lampiran 3.

4.3 Hasil Analisis Nilai IC_{50}

Parameter yang dikenalkan untuk menginterpretasikan hasil dari metode DPPH adalah Nilai IC_{50} yang didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan hilangnya 50 % aktivitas DPPH (Molyneux, 2004). Dari gambar kurva pada Tabel 4.4 yang berhubungan antara % inhibisi dengan konsentrasi uji sampel sehingga diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = bx + a$, dimana nilai x merupakan konsentrasi dalam satuan ppm dan y sendiri merupakan persentase IC_{50} .

Berdasarkan pada gambar 4.4 kurva ekstrak etanol daun kembang mas, hubungan antara konsentrasi uji sampel dengan % inhibisi, maka diperoleh hasil persamaan pada uji 1 regresi linier yaitu, $y = 0,01773x + 6,25$ dengan $R^2 = 0,995$ dan pada uji 2 persamaan regresi linier $y = 0,1735x + 6,4847$ dengan $R^2 = 0,9949$ maka dari nilai R^2 dapat diketahui bahwa terdapat keeratan hubungan yang

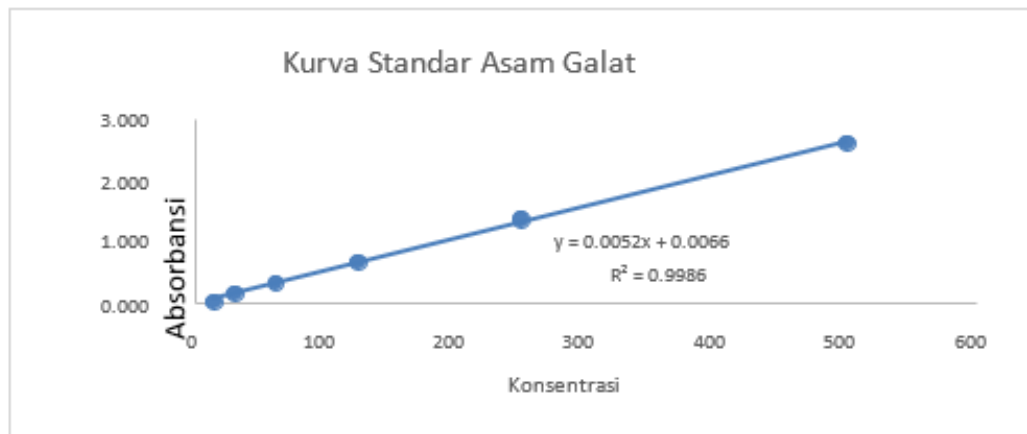
signifikan antara konsentrasi pelarut dengan % inhibisi yang diamati dengan derajat keceratan pada uji 1 adalah 0,995 dan pada uji 2 adalah 0,949 atau dapat dikatakan bahwa nilai R^2 pada uji 1 dan 2 adalah sama. Hal ini menunjukkan bahwa 97 % derajat penghambat dipengaruhi oleh konsentrasi bahan, sedangkan sisanya yaitu kurang dari 3 % dipengaruhi oleh faktor lain seperti kurangnya ketelitian dalam penimbangan, penambahan pelarut, dalam proses pengambilan menggunakan pipet atau adanya pengotor pada larutan dengan kata lain kontaminasi. Nilai R^2 yang diperoleh dapat diartikan bahwa dari ekstrak daun kembang mas memiliki koefisien determinasi hampir mendekati + 1 atau bernilai positif yang artinya data hasil penelitian yang diperoleh sangat baik (Parwati Fino, 2014).

Berdasarkan dari hasil persamaan regresi yang diperoleh dan dapat dilihat pada lampiran 3 dengan mengganti nilai y menjadi 50 maka, dapat dilihat pada tabel nilai rata - rata IC_{50} sebesar 248,78 ppm. Menurut Molyneux (2004), yang secara spesifik antioksidan dikategorikan sangat kuat jika nilai dari IC_{50} nya kurang dari 50 ppm, kuat jika nilai IC_{50} nya 50 – 100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} 100 – 150 ppm, dan dikategorikan lemah jika nilai IC_{50} nya 150 – 200 ppm. Jika dilihat dari hasil IC_{50} ekstrak daun kembang mas tergolong sebagai antioksidan yang sangat lemah karena bernilai 248,78 ppm.

4.4 Hasil Penetapan Kadar Total Fenol

Menurut Pourmorad dkk (2006), prinsip dalam pengukuran total fenol dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu adalah berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru. Dan warna biru akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk. Serta menurut Senet, (2014) penetapan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan larutan baku asam galat yang dipilih karena merupakan substansi yang murni dan stabil, dan merupakan senyawa fenol yang terdapat di alam. Senyawa fenolik dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu jika dalam suasana yang basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Dan suasana ini dapat dibentuk dengan penambahan

Na₂CO₃ 20% (Alfian dan Susanti, 2021). Setelah penambahan reagen Folin-Ciocalteu, Natrium Karbonat (Na₂CO₃) 20% dan akuades. Penentuan kurva standar asam galat menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel dilakukan dengan mengukur absorbansi pada konsentrasi 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 µg/ml dengan Panjang gelombang 765 nm. Kadar total fenol dapat ditentukan dengan menggunakan asam galat sebagai standar. Nilai absorbansi asam galat dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan kurva serapan asam galat dapat dilihat pada Gambar 4.2. Perhitungan persamaan regresi dari kurva asam galat dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 4.2 Kurva Standar Asam Galat

Kurva kalibrasi atau standar asam galat didapat dari hubungan konsentrasi asam galat dan absorbansi yang terbentuk. Dari kurva standar diperoleh nilai R yang berkisaran antara 0 sampai 1 yang menunjukkan seberapa dekat nilai untuk analisis regresi yang mewakili nilai data sebenarnya. Dapat diketahui dari Gambar Kurva standar asam galat diatas, diperoleh nilai R₂ adalah 0,9986 dengan persamaan regresi $y = 0,0052x + 0,0066$.

Tabel 4.4 Nilai Total Fenol

pengulangan	absorbansi pengukuran	Absorbansi blanko	Absorbansi Sampel	KTFe ± SD
1	0,161	0,047	0,114	20,43±0,462
2	0,155	0,045	0,11	
3	0,157	0,043	0,114	

Dari tabel diatas, dapat disimpulkan jika kadar total fenol yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kembang mas sebesar $20,43 \pm 0,462$ mgGAE/g ekstrak, artinya dalam setiap gram ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) terdapat fenolik yang setara dengan 20,43 mg asam galat. Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) merupakan hasil metabolit sekunder yang potensial sebagai sumber bahan baku obat yang berperan sebagai antioksidan. Kadar total fenol yang ditetapkan menurut metode kolorimetri dengan pereaksi Folin-Coicalteu bukanlah kadar absolut, tetapi prinsipnya berdasarkan kapasitas reduksi dari bahan yang diuji terhadap suatu reduksi ekivalen dari asam galat (Rahmawati, 2009). Jenis pelarut mempengaruhi kadar total fenol. Fenol merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga kelarutannya paling tinggi dalam pelarut polar. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik sehingga kadarnya dalam ekstrak menjadi tinggi (Moein dan Mahmood, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disampaikan:

- a. Hasil pemeriksaan antioksidan dengan metode DPPH diketahui bahwa ekstrak etanol 96 % daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) memiliki nilai IC_{50} sebesar 246,7569 dan 250,8086 dengan rata-rata sebesar 248,78 ppm. Ekstrak etanol daun kembang mas merupakan sampel dengan kadar antioksidan golongan sangat lemah karena memiliki nilai IC_{50} lebih dari 150 – 200 ppm.
- b. Kandungan total fenol dalam ekstrak etanol 96 % daun kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) sebesar $20,43 \pm 0,462$ mg ekuivalen asam galat/gram ekstrak.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian dengan jenis pelarut berbeda dari bagian tanaman kembang mas (*Asclepias curassavica* L.) dan pengujian lainnya untuk mengetahui potensi antioksidan, total flavonoid yang terkandung dalam tanaman kembang mas.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, B. & Sanusi I., (2018). *Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid*. Jurnal Zarah. 6(1):21.
- Banjarnahor, S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids. Medical Journal of Indonesia, 23(4), 239-244. doi:10.13181/mji. v23i4.1015
- Blainski, A., Cristiny, G., dan de Mello, J., 2013, Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of The Total Phenolic Content From Limonium Brasiliense L., Journal Molecules. ISSN 1420-3049.
- Bondet, V., W. Brand-Williams and C.Berset., (1997). Kinetic and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH free Radical Method. *Lebensm-Wis.u.-Technol* 30:609-615.
- Brand Williams, & W.Civelier, M.E. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food science and technology*, 28(1): 25-30.
- Bruneton, J., 1999, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Medicales,
- Budilaksono, W., S. Wahdaningsih, & Fahrurroji. A., (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil). Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN. 1(1).
- Chandra, S., Khan., S., Avula, B., Lata., H., Yang, M.H., Elsohly, M.A., dkk. 2014. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1(1): 2.
- Dachriyanus 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Sumatera Barat: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas. Halaman 1, 3.

- Das. S., Naidu. C.K., and Rao. Y.V., (2014). Antioxidant Evaluation and Cytotoxic Activity Of *Asclepias curassavica* Linn. International Journal of Bioassays. ISSN: 2278-778X.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 336, 337.
- Depkes RI. 2000. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 796.
- Depkes RI.2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, pp. 10-11.
- Ditkes RI.2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depok: Agromedia Pusaka. Halaman 20-25.
- Fu, L., Xu, B.T., Gan, R.Y., Zhang, Y., Xu, X.R., Xia, E.Q., dan Li, H, B., 2011. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Herbal and Tea Infusions, *Int. J. Mol, Sci.* 12, 2112-2124.
- Gandhimathi R, Vijayaraj S, & Jyothirmaie MP, (2012). Analytical Process of Drugs By Ultraviolet (UV) Spectroscopy - A Review. *Int J Pharm Res Anal*. ;2(2):72–8.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan Ketiga. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Halaman 222, 254-255.
- Gurav, S., Deshkar., Gulkari., Duragkar., dan Patil, 2007, Free Radical Scavenging Activity of *Polygala Chinensis* L. *J. Pharmacologyonline*, Vol. 2; 245-253.
- H. Hulya Orak, Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations, *Scientia Horticulturae*, 111, 3, (2007) 235-241.
- Hermani dan Rahardjo, M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta, pp. 9, 16-20.
- Ibrahim, N., Yusriadi, Ihwan. 2014. Uji efek antipiretik kombinasi ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm.f. Nees.) dan ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*). *Online Journal of Natural Science FMIPA* 3(3):257-268.

- Isnidar, Wahyuono, S., & Setyowati, F., P. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.
- Jasson, N., 2005., The Determination of Total Phenolic Compounds in Green Tea, <http://folinciocalteu/method/colorimetric>,
- Juárez-Jaimes, V.; Alvarado-Cárdenas, L.O.; Villaseñor, J.L. La familia Apocynaceae sensu lato en México: Diversidad y distribución. *Rev. Mex. Biodivers.* 2007, 78, 459–482.
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita. (2009). Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (Brine shrimp lethality test) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains*, 13(1), 50-54.
- Kamel, E.A.R.; Sharawy, S.M.; Karakish, E.A.K. Cytotaxonomical investigations of the tribes Asclepiadeae and Ceropogieae of the subfamily Asclepiadoideae-Apocynaceae. *Pakistan J. Bot.* 2014, 46, 1351–1361.
- Kinghorn, A.D., (2011). *Pharmacognosy in 21st Century*. *J Pharm Pharmacol*, 53: 135-148.
- Koleva, I.I., van Beek, T.A., Linssen, J.P., de Groot, A., Dan Ecstatieva, L.N., 2002. Screening of Plant Extract for Antioxidant Activity, A Comparative Study on Three Testing Methods, *J.Phy.Anal.*, 13, 8-17.
- M.E. Endress and P.V. Bruyns, A revised classification of the Apocynaceae s.l. *Botanical Review*, 66: 1-56, (2000).
- Marinova, G., dan V. Batchvarov. 2011. Evaluation of the Methods for Determination of the Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgaria: Bulgarian Journal of Agricultural Science*. Vol 17(1). Halaman 12-13.
- Marjoni, M. R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: Trans Info Media. Halaman 5-35.
- Marjoni, M.R. 2016. *Dasar – dasar Fitokimia*. Jakarta: Trans Info Media. Halaman: 6-10, 12, 13, 16, 20-24, 50, 54, 58, 59.
- Markham, K.R. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB. Halaman 1, 3, 5, 10, 38.
- Mary SMK, Mahesh MK. Antimicrobial activity of *Asclepias curassavica* flower extracts. *J Bio Innov.* 2014;3(6):261-8

- Moein, S., dan Mahmood, R.M. (2010). Relationship Between Antioxidant Properties and Phenolics in *Zhumeria Majdae*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7: 517-521.
- Mohan, T.J, Balaji, K., Krishna, S., Ambedkar, S., Venugopal, M.P, 2019. Evaluation of antimicrobial activity of *Asclepias Curassavica* Ethanol Extract. *Am. J. Pharm Tech Res.* : 9(2).
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Novitasari, A.E. dan D.Z. Putri. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12):10-14.
- Nurhayati, Siadi, K., dan Herjono, 2012, Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat, *Indo. J.Chem. Sci.*, 1(2), 158-163.
- Panjaitan T, Budhi P & Leenawaty L. 2011. Peranan karotenoid alami dalam menangkal radikal bebas di dalam tubuh. *Artikel. Universitas Sumatera Utara*, :15-20.
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories-Analytical Progress*. 19(2): 2.
- Prior, R. L., Wu, X, dan Schaich, K., 2005, Standarized Method for Determination of Antioxidants Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem*, 55,2698 A-J.
- Putra, D. P., Al Fatra, H., & Bachtiar, A. (2010). Isolasi senyawa antioksidan dari kelopak bunga nusa indah (*Mussaenda frondosa* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 5(1) : 48-56
- Rahmawati dan Anita. (2009). Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Halaman 231-232.
- Rahmi K. Revita, S., & Sulastri, A.V. 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode

- DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazil). Jurnal Pharmascience, Vol. 06, No.01, hal: 74 - 82 ISSN-Print. 2355 – 5386
- Ramadhan, P. 2015. Mengenal Antioksidan. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hal. 17-22.
- Riswiyanto, S. 2010. *Kimia organik* edisi kedua. Jakarta: Penerbit Erlangga. Halaman 347-348.
- Roy, M.C.; Chang, F.R.; Huang, H.C.; Chiang, M.Y.N.; Wu, Y.C. Cytotoxic principles from the Formosan milkweed, *Asclepias curassavica*. J. Nat. Prod. 2005, 68, 1494–1499.
- Saxena, M., Saxena, J., & Pradhan, A. (2012). Flaonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 16(2), 130-134.
- Sayuti, K. & R. Yenrina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.
- Sunarni, T., Pramono. S, & Asmah, R. (2007). Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (B1.) Hook f. & Th.). Majalah Farmasi Indonesia. 18(3): 111-116. (Online). (14 Mei 2012, 10:12).
- Sundararajan R. *Asclepias curassavica*: A review of ethnomedical, phytochemical and pharmacological information. Indo Am J Pharm Res 2014;4:1739-55.
- Tjokrokusumo, D. 2015. Review: Mencegah dan melawan penyakit kanker dan degeneratif dengan jamur kancing (*Agaricus bisporus*). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.* 1(6). Halaman 1532-1533.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius. Halaman 12, 17.
- Winarti, S. 2010. Makanan Fungsional edisi I. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Yuslianti, E. R. 2018. *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Deepublish 2-4, 17, 85, 89, 92.
- Zhang, R.R.; Tian, H.Y.; Tan, Y.F.; Chung, T.Y.; Sun, X.H.; Xia, X.; Ye, W.C.; Middleton, D.A.; Fedosova, N.; Esmann, M.; et al. Structures, chemotaxonomic significance, cytotoxic and Na⁺,K⁺-ATPase inhibitory

activities of new cardenolides from *Asclepias curassavica*. *Org. Biomol. Chem.* 2014, 12, 8919–8929. [CrossRef].



ORGANISASI RISET ILMU PENGETAHUAN HAYATI
Kantor Pusat Riset Biologi

Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16911
Telepon/wa: 08118610183 | email: organisasirisetiph@brin.go.id
<https://www.brin.go.id>

Lampiran 1. Hasil Determinasi

Cibinong, 12 Oktober 2021

Nomor : B-233/V/DI.05.07/10/2021

Lampiran : -

Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.

Bpk./Ibu/Sdr(i). **Heidy Maya Karim**

NIM : 17334008

Institut Sains Dan Teknologi Jakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke “Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat Riset Biologi-BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Daun cinde/ kembang mas	<i>Asclepias curassavica</i> L.	Apocynaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepada Kantor Pusat Riset Biologi BRIN
ORGANISASI RISET ILMU PENGETAHUAN HAYATI
Dr. Anas Setiawan Achmas, S.KHM.Sc
NIP. 1978102620050210

D:\Identifikasi Mahasiswa 2021\BRIN\Heidy Maya Karim.docx\Mg-YR-RM-Mg



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

No : 393/13.11.7/LPSB/21 Bogor, 30 November 2021
Lampiran : 1 halaman
Perihal : Laporan Hasil Uji

Kepada Yth.

Heidy Maya Karim

ISTN Jakarta

Dengan hormat,

Berdasarkan formulir permohonan analisis order no 038/X, maka bersama ini kami sampaikan hasil uji analisis laboratorium untuk sampel: .

Nama sampel : Ekstrak Daun Kapas Cindel Kembang Mas

Jenis analisis : Fitokimia (Flavonoid, Alkaloid, dan Saponin), Total Fenol, dan Antioksidan I - DPPH

Demikian surat ini kami sampaikan semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Hormat kami,

Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka

LPPM IPB

Rudi Heryanto, M.Si

Manajer Teknis

Hasil pengukuran /penguji hanya berhubungan dengan barang yang diuji

Dilarang memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan terallis dari Laboratorium Pusat SãJdi BioËrmaka, LPPM IPB

Lampiran 2. Hasil Laporan Uji



LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA

LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151

Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;

website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI

No. (sertifikat) 405.034/ LPSB IPB/X/21

No Order : 038/X

Nama / Instansi : Heidy Maya Karim / ISTN Jakarta

Alamat : Jakarta

Jenis analisis : Fitokimia (Flavonoid, Alkaloid, dan Saponin), Total Fenol,
dan Antioksidan IC50 – DPPH

Tanggal Terima : 26 Oktober 2021

Tanggal pengujian : 08 November 2021

Nama Sampel	Identitas & Keadaan Sampel	Parameter	Hasil	Satuan	Teknik Analisis	
Ekstrak Daun Kembang Mas	Padatan	Fitokimia:				
		Flavonoid	Positif		Visualisasi	
		Alkaloid	Wagner	Negatif		Warna
			Meyer	Negatif		
			Dragendorff	Negatif		
		Saponin	Positif			
Total Fenol	2.02	% (b/b)	Spektrofotometri			
Antioksidan IC50 - DppH	248.78	ppm	Spektrofotometri			
Vitamin C	Padatan	Antioksidan IC50	4.38	ppm	Spektrofotometri	
Keterangan:						

Bogor, 30 November 2021

Manajer Teknis,

Rudi Heryanto, MSi

NIP. 19760428 200501 1002

Hasil pengukuran /pengujian hanya berhubungan dengan barang yang diuji

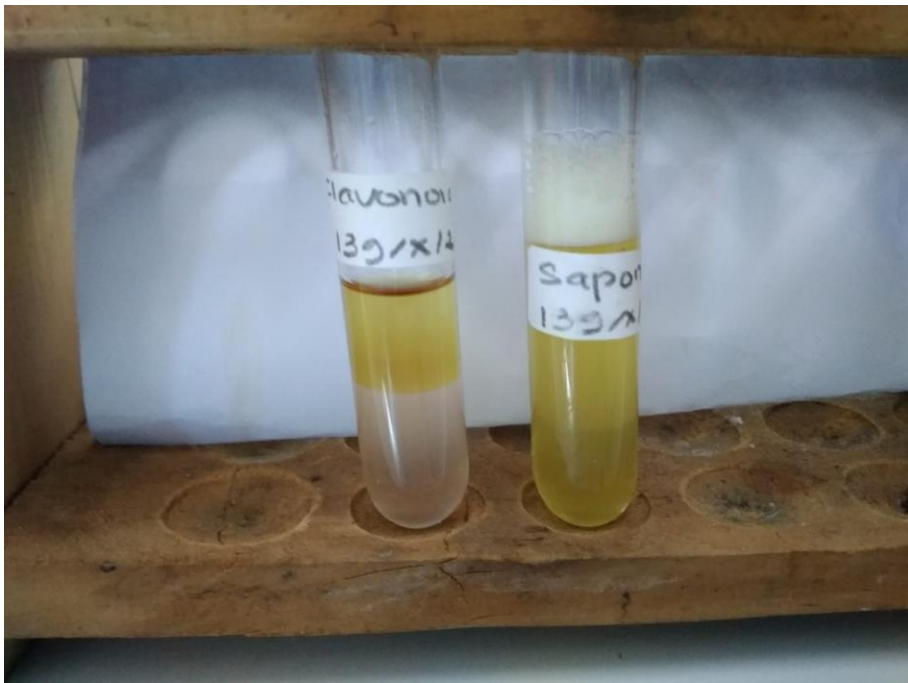
Dilarang memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Biofarmaka, LPPM IPB

Tabel 4.5 Nilai Absorbansi Asam Galat

Ppm	K-	Abs	Abs-(K-)	Abs Terkoreksi
500	0,035	2,631	2,596	2,591
250	0,035	1,409	1,374	1,369
125	0,036	0,721	0,685	0,681
62.5	0,035	0,381	0,346	0,342
31.25	0,034	0,203	0,169	0,164
15.625	0,033	0,080	0,047	0,043
Blanko	0,036	0,040	0,004	

Tabel 4.6 Total Fenol

Nama Sampel	Kode sampel	U1	U2	U3	K-	Abs Rata-Rata	Abs-(K-)	Abs Terkoreksi	Bobot (mg)	Volume (mL)	Slope	Intercept	Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi sampel (%b/b)
Ekstrak Daun Kembang Mas	139 X 21	0,161	0,155	0,157	0,035	0,158	0,123	0,112	10	10	0,0052	0,0066	20,2051	2,021 %
	Blanko	0,047	0,045	0,043	0,034	0,045	0,011							





Perhitungan

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Kembang Mas.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{48,7 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 24,35 \% \end{aligned}$$

Perhitungan pembuatan larutan

Larutan induk DPPH 500 ppm

a. Kadar 6,25 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 6,25 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{31,25 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,0625 \text{ ml}$$

b. Kadar 12,5 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 12,5 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{62,5 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,125 \text{ ml}$$

c. Kadar 25 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{125 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ ml}$$

d. Kadar 50 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{250 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ ml}$$

e. Kadar 100 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{500 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 1 \text{ ml}$$

f. Kadar 200 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{1000 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 2 \text{ ml}$$

g. Kadar 400 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \times 400 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{2000 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} = 4 \text{ ml}$$

Lampiran 4. Persentase Inhibisi Ekstrak Etanol 96% Daun Kembang Mas

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

A kontrol : absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel : absorbansi sampel

a. DPPH

$$\% = \frac{0,284 - 0,069}{0,284} \times 100 = 75,7042 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,157}{0,284} \times 100 = 44,7138 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,215}{0,284} \times 100 = 24,2958 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,241}{0,284} \times 100 = 15,1408 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,259}{0,284} \times 100 = 8,8028 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,267}{0,284} \times 100 = 5,9859 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,273}{0,284} \times 100 = 3,5211 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,072}{0,284} \times 100 = 74,6479 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,16}{0,284} \times 100 = 43,6620 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,216}{0,284} \times 100 = 23,9437 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,238}{0,284} \times 100 = 16,1972 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,26}{0,284} \times 100 = 8,4507 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,267}{0,284} \times 100 = 5,9859 \%$$

$$\% = \frac{0,284 - 0,273}{0,284} \times 100 = 3,8732 \%$$

b. Asam Askorbat

$$\% = \frac{0,327 - 0,02}{0,327} \times 100 = 93,8838 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,023}{0,327} \times 100 = 92,9664 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,143}{0,327} \times 100 = 56,2691 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,23}{0,327} \times 100 = 29,6636 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,279}{0,327} \times 100 = 14,6789 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,301}{0,327} \times 100 = 7,9511 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,317}{0,327} \times 100 = 3,0581 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,022}{0,327} \times 100 = 93,2722 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,025}{0,327} \times 100 = 92,3547 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,141}{0,327} \times 100 = 56,8807 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,23}{0,327} \times 100 = 29,6636 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,277}{0,327} \times 100 = 15,2905 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,3}{0,327} \times 100 = 8,2569 \%$$

$$\% = \frac{0,327 - 0,314}{0,327} \times 100 = 3,9755 \%$$

Lampiran 5. IC₅₀

a. Ekstrak Etanol 96 % Daun Kembang Mas

y	a	b	x
50	0,1773	6,25	246,7569
50	0,1735	64,847	250,8086
IC₅₀ Asam Askorbat			248,78

$$x = \frac{50 - b}{a} =$$

$$x = \frac{50 - 6,25}{0,1773} = 246,7569$$

$$x = \frac{50 - 6,4847}{0,1735} = 250,8086$$

$$IC_{50} = \frac{246,7569 + 250,8086}{2} = 248,78275$$

b. IC₅₀ Asam Askorbat

y	a	b	x
50	11,253	0,5224	4,396836
50	11,222	10,703	4,360159
IC₅₀ Asam Askorbat			4,3785

$$x = \frac{50 - b}{a} =$$

$$x = \frac{50 - 0,5224}{11,253} = 4,396836$$

$$x = \frac{50 - 1,0703}{11,222} = 4,3601586 \sim 4,360159$$

$$IC_{50} = \frac{4,396836 + 4,3601586}{2} = 4,37849 \sim 4,3785$$

Lampiran 6. Perhitungan konsentrasi fenolik dalam larutan ekstrak yang setara dengan konsentrasi asam galat

y	A	b
0,112	0,0052	0,0066

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0,112 - 0,0066}{0,0052} = 20,269 \mu g/ml$$

$$x = 0,020269 mg/ml$$

Perhitungan pembuatan larutan

Larutan induk asam galat 1000ppm

a. Kadar 15,625 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 15,625 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{156,25 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,15625 \text{ ml}$$

b. Kadar 31,25 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 31,25 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{312,5 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,3125 \text{ ml}$$

c. Kadar 62,5 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 6,25 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{62,5 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,0625 \text{ ml}$$

d. Kadar 125 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 125 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{1250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 1,25 \text{ ml}$$

e. Kadar 250 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 250 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{2500 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ ml}$$

f. Kadar 500 ppm

$$V^1 \cdot M^1 = V^2 \cdot M^2$$

$$V^1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 500 \text{ ppm}$$

$$V^1 = \frac{5000 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 5 \text{ ml}$$

1. Penentuan Kadar Total Fenol (mgGAE/g ekstrak)

$$\text{Kadar Total Fenol} = \frac{x \cdot V \cdot FP}{BS}$$

Keterangan :

x = konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (L)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)

Lampiran 7. Perhitungan Tabel 5.

$$KTFe = \frac{V(\text{mL}) \times X \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) \times FP}{g \text{ ekstrak}}$$

$$KTFe = \frac{10\text{mL} \times 0,02027\text{mg/ml} \times 1}{0,01} = \frac{20,27\text{mgGAE}}{g}$$

$$KTFe = \frac{10\text{mL} \times 0,0199\text{mg/ml} \times 1}{0,01} = \frac{19,9\text{mgGAE}}{g}$$

$$KTFe = \frac{10\text{mL} \times 0,02027\text{mg/ml} \times 1}{0,01} = \frac{20,27\text{mgGAE}}{g}$$

$$x = \frac{0,114 - 0,0066}{0,0052} = 20,65385\mu\text{g/ml}$$

$$x = 0,020654 \text{ mg/ml}$$

$$x = \frac{0,11 - 0,0066}{0,0052} = 19,88461\mu\text{g/ml}$$

$$x = 0,019884 \text{ mg/ml}$$

$$x = \frac{0,114 - 0,0066}{0,0052} = 20,65385 \mu g/ml$$

$$x = 0,020654 mg/ml$$

$$= 20,27 mgGAE/gram$$

Lampiran 8. Standar Deviasi

Data X_i	Rerata inhibisi f_i	$f_i \cdot X_i$	$ X_i - \bar{x} $	$ X_i - \bar{x} ^2$	$f_i X_i - \bar{x} ^2$
400	75,176	30.070,4	162,52	26412,750	1985604,894
200	44,190	8.838	37,48	1404,750	62075,903
100	42,120	4.212	137,48	18900,750	796099,59
50	15,669	783,45	187,48	35148,750	550745,763
25	8,627	215,675	212,48	45147,750	389489,639
Jumlah	185,782	44.119,525			3784015,789

$$mean (\bar{x}) = \frac{44.119,525}{185,782} = 237,480$$

Simpangan Baku atau Standar Deviasi

$$standar\ deviasi\ (S) = \sqrt{\frac{\sum f_i |X_i - \bar{x}|^2}{\sum f_i}}$$

$$S = \sqrt{\frac{3784015,789}{185,782}} = \sqrt{142,717} = 11,946$$

Tabel 4.7. Hasil Perhitungan Total Fenol

Pengulangan	absorbansi pengukuran	absorbansi	absorbansi	x $\mu\text{g/mL}$	X mg/mL	KTFe	rata-rata KTFe	SD	KTFe \pm SD
1	0,161	0,047	0,114	20,65385	0,020654	20,7	20,43333	0,46188022	20,43 \pm 0,462
2	0,155	0,045	0,11	19,88462	0,019885	19,9			
3	0,157	0,043	0,114	20,65385	0,020654	20,7			



**PENGARUH VARIASI PELARUT TERHADAP TOTAL
FENOLIK DAN FLAVONOID SERTA AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA DAUN KECIBELING (*Strobilanthes
crispus*) DENGAN METODE ABTS**

NAMA : TIKA DWI YOLANDA

NPM : 18330143

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
SEPTEMBER 2022**



**PENGARUH VARIASI PELARUT TERHADAP TOTAL FENOLIK DAN
FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA DAUN
KECIBELING (*Strobilanthes crispus*) DENGAN METODE ABTS**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

Nama : Tika Dwi Yolanda

NPM : 18330143

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
SEPTEMBER 2022**

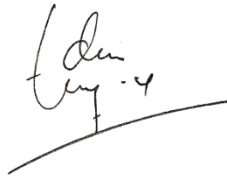
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Tika Dwi Yolanda

NPM : 18330143

Tanggal : September 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Tika Dwi Yolanda', with a long horizontal line underneath.

(Tika Dwi Yolanda)

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tika Dwi Yolanda

NPM : 18330143

Mahasiswa : S1 Farmasi

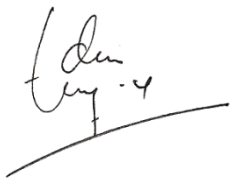
Tahun Akademik : Genap 2021/2022

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul **“Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) Dengan Metode ABTS”**

Apabila suatu saat nanti saya terbukti saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian Surat Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, September 2022



Tika Dwi Yolanda

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Tika Dwi Yolanda
NPM : 18330143
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Total Fenolik
Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada
Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) Dengan
Metode ABTS

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Prgram studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional

DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1 : apt. Dra. Herdini, M.Si ()
Pembimbing 2 : Munawarohthus Sholikha, M.Si ()
Penguji 1 : Prof. Dr. Amlius Thalib ()
Penguji 2 : Desy Muliana Wenas, M.Si ()
Penguji 3 : Ika Maruya Kusuma, M.Si ()

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : September 2022

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan tuntutan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul **“Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) Dengan Metode ABTS”** Adapun skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sain dan Teknologi Nasional.

Saya menyadari bahwa penulisan ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan skripsi ini terutama kepada:

1. Ibu apt. Dr. Refdanita, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional
2. Ibu apt. Yayah Siti Juariah, S.Si, M.Si., selaku Kepala Program Studi Farmasi Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional
3. Ibu Herdini, Dra.M.Si., selaku pembimbing 1 dan Ibu Munawarohthus Sholikha, M.Si., selaku pembimbing 2 yang telah memberikan ilmu, masukan, dukungandan banyak meluangkan waktu, pikiran serta tenaga untuk membimbing dan mengarahkan, sejak pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Darman Jaya dan Ibu Yulmai Hendri selaku orang tua saya, kaka saya Syaiful Fadjri, dan adik saya Agung Tri Jaya serta paman saya Jufrinaldi yang selalu memberikan doa tiada henti, kasih sayang, motivasi, semangat, serta dukungan moril dan materil dalam penyusunan skripsi ini.
5. Sahabat saya, Indes, Nayung, Fatiyah, Shika, Nancy, Dona, Sherly, Naya, Ara, Sinta dan Lingga serta teman-teman Farmasi ISTN Angkatan 2018 yang

sudah membantu memberikan dorongan, dukungan serta pemikiran dalam proses penyusunan skripsi ini.

6. Semua pihak yang telah membantu selama pembuaatan proposal hingga penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Juli 2022

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Tika Dwi Yolanda', with a long horizontal line extending from the end of the signature.

Tika Dwi Yolanda

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Institut Sains dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tika Dwi Yolanda

NPM : 18330143

Program Studi : S1 Farmasi

Fakultas : Farmasi

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional **Hak Bebas Royalti Noneklusif** (*Nonexclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

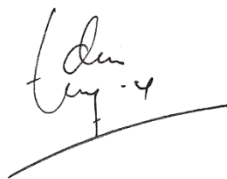
Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) Dengan Metode ABTS beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*) *soft copy dan hard copy*, merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : September 2022

Yang menyatakan



(Tika Dwi Yolanda)

ABSTRAK

Nama : Tika Dwi Yolanda
Program Studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Variasi Pelarut Terhadap Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) Dengan Metode ABTS

Tanaman kecibeling merupakan tanaman herbal Indonesia yang telah diketahui sebagai aktivitas antioksidan dan telah dikembangkan menjadi beberapa macam pengobatan seperti batu ginjal, batu empedu, diabetes, kolesterol, serta tumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung, serta untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*). Ekstraksi daun kecibeling menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96 %, etil asetat, dan n-heksan. Ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan n-heksan ditetapkan kadar fenolik dan flavonoid total serta diuji aktivitas antioksidannya dengan metode ABTS. Penetapan kadar fenolik diuji dengan pembanding asam galat dan pembanding kuersetin untuk penetapan kadar flavonoid. Aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS (*2,2 Azinobis 3 Ethylbenzothiazolin 6 Sulfonic Acid*) dengan pembanding vitamin C. Data yang diperoleh berupa metabolit sekunder daun kecibeling, kadar fenolik total, kadar flavonoid total, dan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan n-heksan. Metabolit sekunder yang terkandung pada daun kecibeling yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan terpenoid. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kecibeling rata-rata kadar total flavonoid berturut-turut sebesar 60,67 mgQE/g ekstrak, 67,42 mgQE/g ekstrak dan 111,53 mgQE/g ekstrak. Kemudian pada kadar total fenolik berturut-turut sebesar 10,73 mgGAE/g ekstrak, 12,27 mgGAE/g ekstrak dan 21,10 mg GAE/g ekstrak. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kecibeling berturut-turut sebesar 3,994 bpj, 7,130 bpj dan 10,147 bpj.

Kata Kunci: ABTS, Antioksidan, Fenolik, Flavonoid, Kecibeling

ABSTRACT

Name : Tika Dwi Yolanda
Study Program : Pharmacy
Title : The Effect of Solvent Variations on Total Phenolics and Flavonoids and Antioxidant Activities in Kecibeling Leaves (*Strobilanthes crispus*) Using the ABTS Method

Kecibeling plant is an Indonesian herbal plant that has been known as an antioxidant activity and has been developed into several kinds of treatment such as kidney stones, gallstones, diabetes, cholesterol, and tumors. This study aims to determine what secondary metabolites are contained, as well as to determine the presence of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid of kecibeling leaves (*Strobilanthes crispus*). Kecibeling leaf extraction used maceration extraction method with 96% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. Extracts of 96% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane were determined for total phenolic and flavonoid content and tested for their antioxidant activity using the ABTS method. Determination of phenolic content was tested with a comparison of gallic acid and quercetin as a comparison for the determination of flavonoid levels. Antioxidant activity using the ABTS method (2,2 Azinobis 3 Ethylbenzothiazolin 6 Sulfonic Acid) with comparison of vitamin C. The data obtained were secondary metabolites of kecibeling leaf, total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity values of 96% ethanol extract, ethyl acetate, and n-hexane. Secondary metabolites contained in kecibeling leaves are alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, and terpenoids. The ethanol extract, ethyl acetate and n-hexane of kecibeling leaf produced an average total flavonoid content of 60,67 mgQE/g extract, 67,42 mgQE/g extract and 111,53 mgQE/g extract, respectively. Then the total phenolic content was 10,73 mgGAE/g extract, 12,27 mgGAE/g extract and 21,10 mg GAE/g extract, respectively. The IC₅₀ values produced by the extract of ethanol, ethyl acetate and n-hexane of kecibeling leaves were 3,994 ppm, 7,130 ppm and 10,147 ppm, respectively.

Keywords: *ABTS, Antioxidant, Phenolic, Flavonoid, Kecibeling*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tanaman Kecibeling.....	5
2.1.1. Klasifikasi Tanaman.....	5
2.1.2. Morfologi Tanaman	5
2.1.3. Kandungan Kimia	6
2.1.4. Khasiat.....	6
2.2. Ekstrak.....	6
2.2.1. Definisi ekstrak	7
2.2.2. Definisi ekstraksi.....	7
2.2.3. Metode Ekstraksi.....	8
2.3. Skrining Fitokimia.....	9
2.4. Metabolit Sekunder	9
2.4.1. Alkaloid.....	10
2.4.2. Terpenoid	10
2.4.3. Flavonoid.....	11
2.4.4. Fenolik.....	12

2.4.5.	Tanin	12
2.4.6.	Saponin.....	12
2.5.	Cairan Pelarut	13
2.6.	Antioksidan.....	15
2.6.1.	Macam – Macam Antioksidan	16
2.6.2.	Metode Uji Aktivitas Antioksidan	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		20
3.1.	Jenis Penelitian	20
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.1.	Tempat Penelitian.....	20
3.2.2.	Waktu Penelitian	20
3.3.	Alat dan Bahan Penelitian	20
3.3.1.	Alat Penelitian.....	20
3.3.2.	Bahan Penelitian.....	20
3.4.	Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1.	Determinasi Tanaman	21
3.4.2.	Pengumpulan Bahan.....	21
3.4.3.	Pembuatan Serbuk Simplisia.....	21
3.4.4.	Pembuatan Ekstrak.....	21
3.4.5.	Skrining Fitokimia	22
3.4.6.	Penetapan Kadar Flavonoid	23
3.4.7.	Penetapan Kadar Fenolik	24
3.4.8.	Pengujian Antioksidan dengan metode ABTS.....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		28
4.1.	Determinasi Tanaman Uji.....	28
4.2.	Hasil Ekstraksi Daun Kecibeling.....	28
4.3.	Skrining Fitokimia.....	30
4.4.	Hasil Penetapan Kadar Flavonoid	31
4.5.	Hasil Penetapan Kadar Fenolik	34
4.6.	Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS.....	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		41
5.1.	Kesimpulan.....	41
5.2.	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA		42
Lampiran		49

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Perhitungan % Rendemen Estrak Etanol 96%, Etil Asetat Dan n-Heksan Pada Daun Kecibeling (<i>Strobilanthes crispus</i>).....	29
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kecibeling	30
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Kuersetin.....	31
Tabel 4.4 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Daun Kecibeling	33
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Asam Galat	35
Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Pada Ekstrak Daun Kecibeling....	36
Tabel 4.7 Nilai IC_{50} Larutan Pembanding Vitamin C.....	37
Tabel 4.8 Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan N-Heksan Daun Kecibeling	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Kecibeling (<i>Strobilanthes crispus</i>)	6
Gambar 2.2 Struktur Isoprena	11
Gambar 2.3 Struktur umum flavonoid	11
Gambar 2.4 Struktur umum saponin	13
Gambar 3.1 Skema Penelitian	27
Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Kuersetin.....	32
Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Asam Galat	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	49
Lampiran 2. Perhitungan % Rendemen Ekstrak	50
Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia	53
Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Larutan	55
Lampiran 5. Penetapan Kadar Flavonoid Daun Kecibeling.....	59
Lampiran 6. Penetapan Kadar Fenolik Daun Kecibeling.....	61
Lampiran 7. Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS	63
Lampiran 8. Alat Dan Bahan	65
Lampiran 9. Sertifikat Asam Galat	67
Lampiran 10. Sertifikat Vitamin C.....	68
Lampiran 11. Sertifikat Folin-Ciocalteu	69
Lampiran 12. Sertifikat ABTS	70
Lampiran 13. Sertifikat Etanol Pro Analisis.....	71
Lampiran 14. Sertifikat Kuersetin.....	72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluar yang sangat reaktif dan tidak stabil (Syahara & Vera, 2020). Dalam melawan radikal bebas, tubuh memiliki senyawa atau molekul yang menjadi pertahanan alami yang disebut antioksidan. Tingkat radikal bebas dan antioksidan yang tidak seimbang dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif yang akan merusak tubuh dan menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit aterosklerosis yang disebabkan oleh gagal jantung, kanker dan diabetes mellitus (Berniyanti, 2020). Maka dari itu, diperlukan antioksidan yang dapat mencegah tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh (Maharani *et al.*, 2021).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas. Antioksidan akan mengubah sel-sel tubuh menjadi pengaman untuk melawan radikal bebas di dalam tubuh (Sulastri *et al.*, 2020). Antioksidan dapat diperoleh dari bahan alami dan sintetis (buatan). Sumber antioksidan alami pada umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tanaman. Sedangkan antioksidan sintetis memiliki beberapa kelemahan, terutama terkait dengan dugaan karsinogenisitas yang mengurangi keamanan jika dikonsumsi secara terus menerus. Oleh karena itu, antioksidan alami dianggap lebih aman karena terbuat dari ekstrak bahan-bahan alami (Julianawati *et al.*, 2020).

Tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu tanaman kecibeling (*Strobilanthes crispus*). *Strobilanthes crispus* termasuk famili Acanthaceae atau sering dikenal dengan kecibeling. Tanaman ini merupakan tanaman herbal Indonesia yang telah banyak digunakan untuk beberapa macam pengobatan seperti batu ginjal, batu empedu, diabetes, kolesterol, serta tumor (Adibi *et al.*, 2017). Tanaman ini banyak mengandung metabolit sekunder yang

berpotensi sebagai sumber antioksidan alami seperti, senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, fenolik, tanin, sterol, serta terpenoid (Rachman & Ardiansyah, 2019).

Senyawa kimia yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu flavonoid yang dapat mencegah pertumbuhan radikal bebas dalam tubuh sekaligus memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak (Muqowwiyah & Dewi, 2021). Penentuan senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan alumunium klorida dan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini banyak digunakan karena memiliki banyak kelebihan seperti tidak memerlukan peralatan spesifik yang canggih, sederhana, hasilnya relatif akurat, dapat diulang dan telah digunakan luas untuk mengukur antioksidan (Manongko *et al.*, 2020). Uji aktivitas flavonoid berperan dalam menetralkan radikal bebas yang berkaitan dengan jumlah dan letak gugus hidroksi (-OH) (Nur *et al.*, 2019).

Senyawa fenolik memiliki potensi besar sebagai antioksidan karena kemampuannya membentuk radikal fenoksi yang stabil selama reaksi oksidasi. Senyawa fenolik sering dikaitkan dengan biomolekul lain seperti polisakarida, protein, terpen dan klorofil. Oleh karena itu, perlu digunakan pelarut yang sesuai untuk ekstraksi senyawa tertentu (Nguyen *et al.*, 2021). Tingginya kandungan total senyawa fenolik dalam ekstrak tergantung pada pelarut polar yang digunakan pada proses ekstraksi (Indra *et al.*, 2019).

Dalam melakukan ekstraksi, jenis pelarut yang tepat harus ditentukan berdasarkan sifat fisik dan kimia bahan baku dan metabolit sekunder. Pada penelitian ini digunakan tiga macam variasi pelarut yaitu etanol, n-heksan dan etil asetat untuk mengetahui rendemen dan mendapatkan senyawa aktif daun kecibeling (Nur *et al.*, 2019). Tiga pelarut dipilih berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mengetahui pelarut mana yang memiliki nilai aktivitas tertinggi dalam uji antioksidan.

Penelitian ini menggunakan daun kecibeling karena daun tersebut berpotensi sebagai aktivitas antioksidan yang tinggi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada kecibeling (*Srobilanthes crispus*), yaitu pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kecibeling dengan menggunakan metode DPPH diperoleh hasil bahwa daun kecibeling berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 37,65 bpj dengan menggunakan pelarut etanol (Sulastri *et al.*, 2020).

Metode antioksidan yang digunakan yaitu metode ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazolin 6 asam sulfonate). Metode ABTS memiliki keunggulan seperti lebih reaktif terhadap antioksidan, larut dalam pelarut organik dan air, dapat digunakan pada pH yang berbeda, dan lebih sensitif dibandingkan metode DPPH yang hanya sensitif terhadap pH asam (Kurniawati & Sutoyo, 2021). Antioksidan yang lebih berwarna dan hidrofil memiliki kemampuan peredaman lebih baik terhadap ABTS dibandingkan terhadap DPPH. ABTS menggunakan prinsip inhibisi yaitu dengan cara menambahkan sampel ke sistem penghasil radikal bebas, mengukur efek inhibisi terhadap aktivitas radikal bebas dan mengukur kapasitas antioksidan total sampel (Nur *et al.*, 2019). Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi pelarut terhadap total fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan pada daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan metode ABTS.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apa saja metabolit sekunder yang terkandung pada daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*)?
2. Berapa kadar total fenolik dan flavonoid daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*)?
3. Berapa nilai aktivitas antioksidan daun kecibeling yang diekstraksi dengan variasi pelarut dan dengan metode ABTS?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*).
2. Untuk mengetahui kadar total fenolik dan flavonoid daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*).
3. Untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) yang diekstraksi dengan variasi pelarut dan dengan metode ABTS.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang ilmiah dan memberikan ilmu yang bermanfaat bagi bidang kefarmasian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan metode ABTS atau 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonate.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Kecibeling (*Strobilanthes crispus*)

2.1.1. Klasifikasi Tanaman (W. P. Satria, 2015)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Strobilanthes</i>
Jenis	: <i>Strobilanthes crispus</i>

2.1.2. Morfologi Tanaman

Kecibeling merupakan suatu jenis tumbuhan yang berbatang basah dan menyerupai rumput berbatang tegak dengan tinggi 1-2 cm. Memiliki daun dengan panjang 9–18 cm, lebar 3-8 cm, tunggal berhadapan, bentuk lancet atau lonjong, tepi bergerigi, ujung meruncing, pangkal runcing, pertulangan menyirip, bertangkai pendek, berwarna hijau, permukaan daun kasar. Tangkai daun berwarna ungu, batang beruas (Rizal & Triana, 2019). Bunga majemuk, berbentuk bulir, mahkota berbentuk corong terbagi lima, berwarna kuning dan ungu. Buah berbentuk gelondong, berisi 2-4 biji bulat, pipih, kecil dan berwarna coklat. Tanaman ini tumbuh di tanah yang subur, tempat terbuka dan daerah yang terlindung (Santoso, 2019).



Gambar 2.1 Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) (Sulastris *et al.*, 2020)

2.1.3. Kandungan Kimia

Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) mengandung kandungan mineral yang tinggi termasuk kalium (51%), kalsium (24%), natrium (13%), besi (1%) dan fosfor (1%) (Nurraihana & A, 2013). Adapun senyawa kimia tanaman kecibeling (*Strobilanthes crispus*) yaitu senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, fenolik, tanin, sterol, serta terpenoid (Rivai *et al.*, 2019).

2.1.4. Khasiat

Tanaman kecibeling (*Strobilanthes crispus*) merupakan salah satu tanaman herbal yang memiliki khasiat untuk berbagai macam pengobatan, seperti anti kanker, antidiabetes mellitus, antikolesterol, anti batu ginjal serta anti mikroba (Silalahi, 2020).

2.2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif dari Simplisia dengan pelarut yang sesuai, menguapkan semua atau hampir semua pelarut dan mengolah sisa massa atau serbuk untuk memenuhi kriteria yang ditentukan. Ekstrak dibuat dengan cara mengekstraksikan bahan baku obat secara perkolasi. Semua perkolat dipekatkan dengan destilasi di bawah tekanan rendah, sehingga komponen utama obat terkena panas sesedikit mungkin (Kemenkes RI, 2020).

2.2.1. Definisi ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif dari simplisia dengan pelarut yang sesuai lalu menguapkan semua atau hampir semua pelarut yang tersisa dan sisa massa atau serbuk untuk memenuhi kriteria yang ditentukan. Sebagian besar ekstrak diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi dan dibawah tekanan rendah sehingga komponen utama obat tidak terkena panas. Proses awal pembuatan ekstrak yaitu pembuatan serbuk simplisia kering atau penyerbukan yang dilakukan dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan yang ditentukan (Kemenkes RI, 2020).

2.2.2. Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan pengumpulan metabolit sekunder sebagai target pemisahan biomassa atau fraksi yang tidak diperlukan karena sifatnya yang mengganggu, baik dalam penyajiannya ataupun karena mengganggu efektivitas khasiat bahan aktif (Nugroho, 2017). Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk mendapatkan bahan aktif yang tidak diketahui, mendapatkan bahan aktif yang diketahui, untuk memperoleh sekelompok senyawa yang strukturnya serupa, memperoleh semua metabolit sekunder dari beberapa tanaman dari spesies tertentu dan identifikasi semua metabolit sekunder yang terkandung dalam organisme sebagai penanda kimia atau studi metabolisme (Endarini, 2016).

Teknik ekstraksi yang ideal adalah teknik ekstraksi yang dapat mengekstrak bahan aktif target dengan cepat, mudah, murah dan ramah lingkungan, serta menjaga hasil tetap konsisten bahkan setelah digunakan berulang kali (Endarini, 2016). Proses ekstraksi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pemilihan pelarut, suhu, ukuran partikel sampel, tekanan dan waktu ekstraksi. Optimalisasi kondisi proses sangat penting dalam mencapai efisiensi ekstraksi yang tinggi dan memastikan kesesuaian produk akhir untuk berbagai aplikasi (Xu *et al.*, 2018).

2.2.3. Metode Ekstraksi

2.2.3.1. Metode ekstraksi cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Maserasi merupakan metode yang paling sederhana dan kuno, namun masih digunakan secara luas karena peralatan yang sederhana serta biaya yang murah (Nugroho, 2017). Metode ini tidak diperlukan perlakuan khusus dan tidak melalui proses pemanasan agar terhindar dari penguraian bahan aktif akibat pengaruh suhu (Rivai *et al.*, 2019).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan pada suhu ruangan (kamar) dengan pelarut yang terus berubah sampai ekstraksi sempurna. Alat utamanya adalah perkolator. Perkolator merupakan tabung silinder atau kerucut terbalik dengan lubang atau keran di bagian bawah (Nugroho, 2017). Perkolasi merupakan teknik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif dari bagian tanaman dalam produksi tinktur dan ekstrak cair (Endarini, 2016). Metode perkolasi dilakukan dengan cara melarutkan senyawa metabolit dalam perkolator atau bahan yang diekstraksi dengan melewati pelarut yang sesuai melalui matriks sampel dan mengalir keluar dari bejana untuk ditampung (Nugroho, 2017).

2.2.3.2. Metode maserasi cara panas

1. Reflux

Refluks adalah metode filtrasi dengan memanaskan filter cair hingga mendidih, dimana filter diupkan melalui serbuk simplisia dan uapnya dikondensasikan saat didinginkan dengan pendinginan ulang (kondensor). Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang paling banyak digunakan karena metode ini dianggap sebagai metode yang murah dan mudah dengan hasil yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi dan perkolasi (Nugroho, 2017).

2. Soxhletasi

Soxhletasi adalah proses mengekstrak sampel yang telah dibasahi pelarut ke dalam klonsong berlapis kertas saring lalu sampel dipanaskan dan menguap ke kondensor melalui tabung samping, kemudian turun untuk menyari simplisia masuk melalui pipa sifon dasar bulat abu-abu. Ekstraksi soxhletasi merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan karena kepraktisan dan kemudahannya (Nugroho, 2017).

3. Infusi

Infusi dilakukan dengan merendam sebentar sebagian tanaman dalam air dingin atau mendidih. Pilihan suhu injeksi tergantung pada ketahanan senyawa aktif yang digunakan sebagai bahan kimia. Karena tidak menggunakan bahan pengawet, maka hasil infusi tersebut tidak dapat digunakan secara permanen (Endarini, 2016).

2.3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap persiapan untuk penelitian fitokimia. Metode ini pada dasarnya adalah reaksi antara uji warna dan reagen warna yang bertujuan untuk memberikan gambaran umum tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode yang digunakan untuk skrining fitokimia harus memiliki beberapa kriteria yaitu memerlukan peralatan sederhana, cepat, khas untuk satu golongan senyawa, memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa bahkan pada konsentrasi yang cukup rendah) (Endarini, 2016).

2.4. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang ditemukan dalam jumlah kecil dalam organisme yang memproduksinya, dikarenakan tidak berfungsi sebagai bagian penting dalam metabolisme atau sebagai kekuatan utama dalam kelangsungan hidup untuk organisme, namun berfungsi sebagai pendukung untuk sarana pertahanan diri, ketahanan terhadap penyakit atau kondisi kritis, bertindak sebagai hormon. Metabolit sekunder memiliki beberapa berfungsi yaitu sebagai pertahanan terhadap virus, bakteri dan

fungi; atraktan (rasa, warna, bau) untuk polinator dan hewan penyebar biji; perlindungan dari radiasi UV; dan sebagai penyimpan nitrogen (Anggraito *et al.*, 2018).

Analisis metabolit sekunder pada tumbuhan erat kaitannya dengan pengambilan, penentuan, identifikasi dan penyimpanan suatu sampel. Berdasarkan kerangka senyawa, metabolit sekunder terbagi menjadi alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid dan saponin (Saidi *et al.*, 2018).

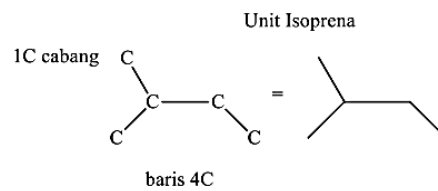
2.4.1. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan berat molekul rendah dan memiliki efek farmakologis pada manusia dan hewan. Simplisia yang mengandung senyawa golongan alkaloid dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat herbal (Anggraito *et al.*, 2018). Alkaloid adalah sekelompok senyawa yang tidak homogen dari segi kimia, biokimia, atau fisiologis dan memiliki sifat umum yang khas seperti Alkaloid menunjukkan reaksi basa karena atom nitrogen memberikan sepasang elektron, rasanya pahit dan dapat memberikan warna dengan reagen tertentu, Biosintesis berasal dari asam amino, memiliki aktivitas biologis, serta mengendap dengan beberapa pereaksi (Endarini, 2016).

2.4.2. Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok metabolit sekunder terbesar yang memiliki komponen utama minyak atsiri dan memiliki senyawa fitokimia dengan spektrum terluas. Kebanyakan terpenoid diketahui memiliki kerangka karbon yang terdiri dari dua atau lebih unit C₅ yang disebut unit isoprena (unit terkecil dari senyawa terpen). Senyawa terpenoid dikelompokkan berdasarkan jumlah isoprena dalam struktur inti. Banyak senyawa aromatik seperti mentol, linalool, geraniol, mirsen dan kariofilen terbentuk dari monoterpen (C₁₀) yang memiliki dua unit isoprena dan seskuiterpen (C₁₅) dengan tiga unit isoprena. Kelompok lainnya adalah diterpen (C₂₀), triterpen (C₃₀) dan tetraterpen (C₄₀), masing-masing memiliki sifat fisik dan kimia yang berbeda (Nugroho, 2017). Senyawa terpenoid bersifat antibakteri, antijamur, antivirus, antiparasit, antihiperlipidemia, antialergenik,

antiinflamasi, antipasmodik, imunomodulator dan kemoterapi spesifik spesies (Anggraito *et al.*, 2018).

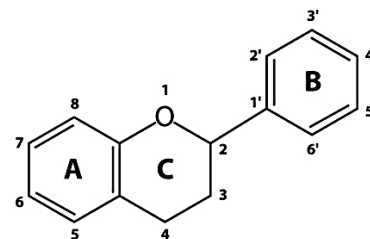


Gambar 2.2 Struktur Isoprena (Heliawati, 2018)

2.4.3. Flavonoid

Flavonoid adalah polifenol yang tersusun dari 15 atom karbon, dengan dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang diikat oleh tiga jembatan karbon (cincin C) (Nugroho, 2017). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan eksogen. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mengkelat logam, baik dalam bentuk glukosida maupun dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan yaitu mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralkan efek toksik dari radikal bebas serta meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) (Anggraito *et al.*, 2018).

Flavonoid diproduksi oleh jaringan tanaman sebagai respon terhadap infeksi dan kerusakan serta mengganggu fungsi penyerangannya. Flavonoid bagi tumbuhan berfungsi sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antibakteri, zat antivirus dan zat antiinsektisida (Anggraito *et al.*, 2018). Pigmen flavonoid yang paling umum adalah antosianin yang menyebabkan warna merah, pink, ungu dan biru pada bunga dan buah (Nugroho, 2017).



Gambar 2.3 Struktur umum flavonoid (Nugroho, 2017)

2.4.4. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan antioksidan kuat yang memiliki cincin aromatik dengan beberapa gugus hidroksil dan mengikat radikal bebas untuk melindungi sel-sel tubuh dari bahaya radikal bebas. Senyawa fenolik memiliki beberapa gugus hidroksil pada cincin aromatik disebut senyawa polifenol. Polifenol dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu flavonoid dan non-flavonoid (Nugroho, 2017).

Biosintesis senyawa fenolik dapat dilakukan melalui dua metode yaitu jalur sikimat dan jalur asam malonat. Jalur sikimat digunakan untuk sintesis senyawa asam amino berbasis fenilalanin, sedangkan asam malonat menggunakan asetil-KoA sebagai komponen utama (Anggraito *et al.*, 2018). Fenol dapat dibagi menjadi empat bagian yaitu fenol dengan satu cincin aromatik, fenol dengan dua cincin aromatik, kuinon dan polimer (Nugroho, 2017).

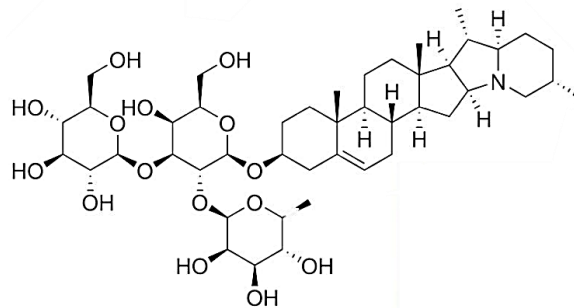
2.4.5. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan jumlah gugus hidroksil yang melimpah atau gugus lain seperti karboksil untuk membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan beberapa makromolekul seperti protein, pati, selulosa bahkan mineral (Nugroho, 2017). Gugus -OH dari tanin seperti radikal bebas superoksida (O_2^-), hidroksil, peroksil (ROO^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksigen nitrit (NO^-) dan peroksinitrit ($ONOO^-$) mampu berfungsi sebagai antioksidan (Anggraito *et al.*, 2018). Di dalam tubuh tanin disintesis melalui jalur asam sikimat atau fenilpropanoid. Tanin ditemukan dalam berbagai jenis tanaman seperti teh, yang dicirikan oleh rasa sepat dan keasamannya. Tanin memiliki kemampuan untuk bertindak sebagai astringent, dimana senyawa yang bisa mengencangkan jaringan tubuh sehingga dapat digunakan untuk mengencangkan kulit (Nugroho, 2017).

2.4.6. Saponin

Saponin adalah sekelompok senyawa glikosida yang bila dikocok dapat membentuk larutan koloid dalam air dan gelembung. Saponin ditemukan dalam bentuk glikosida sebagai glikosida amfipatik. Glikosida amfipatik adalah glikosida

dengan sifat hidrofilik (suka air) dan lipofilik (suka minyak), seperti sifat sabun dan sampo (Nugroho, 2017). Saponin digunakan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi penyerapan zat aktif secara farmakologis. Saponin juga memiliki sifat meningkatkan permeabilitas kertas saring, mengurangi tegangan permukaan, bertindak sebagai surfaktan, mempertahankan suspensi glikosida yang tidak larut dalam air dalam formulasi infus, merangsang keluarnya sekret dari bronkus, meningkatkan aktivitas epitel bersilia yaitu merangsang batuk untuk mengeluarkan dahak dan meningkatkan absorpsi senyawa diuretik (terutama dalam bentuk garam) dan saponin dapat mengakibatkan hemolisis (Endarini, 2016).



Gambar 2.4 Struktur umum saponin (Nugroho, 2017)

2.5. Cairan Pelarut

Cairan pelarut pada proses ekstraksi merupakan bahan aktif atau pelarut yang sesuai (optimal) untuk senyawa aktif atau senyawa kandungan yang berkhasiat. Senyawa ini dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya, ekstrak hanya mengandung sebagian besar bahan yang diperlukan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor terpenting saat memilih cairan filter adalah selektivitas, kemudahan penanganan dan pemrosesan cairan, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan.

Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi persyaratan produk farmasi atau disebut dalam industri sebagai kelompok spesifikasi "pharmaceutical grade". Pelarut yang berlaku yaitu air dan alkohol (etanol) dan campurannya. Jenis pelarut lain berfungsi untuk pemisahan dan pemurnian umumnya seperti larutan encer

metanol (alkohol turunan), heksana (hidrokarbon alifatik), larutan encer toluena (hidrokarbon aromatik), kloroform, serta aseton. Secara khusus, metanol dihindari penggunaannya karena toksisitas akut dan kronis, tetapi jika tes menunjukkan pelarut residu negatif dalam ekstrak, metanol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan dengan etanol (Depkes RI, 2000).

1. Etanol

Etanol atau etil alkohol dengan rumus molekul C_2H_6O merupakan cairan yang mudah menguap, jernih, tidak berwarna, memiliki bau yang khas dan menyebabkan sensasi terbakar di lidah. Etanol mudah menguap pada suhu rendah, mendidih pada suhu 78° dan mudah terbakar. Etanol mengandung tidak kurang dari 92,3% b/b dan tidak lebih dari 93,8% b/b, setara dengan tidak kurang dari 94,9% v/v dan tidak lebih dari 96,0% v/v C_2H_6O pada suhu 15,56. Etanol larut dalam air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik (Kemenkes RI, 2020).

2. Aseton

Aseton merupakan cairan bening, tidak berwarna, mudah menguap, mempunyai bau khas, larutan netral terhadap kertas lakmus, sangat mudah terbakar dan tidak boleh ditempatkan pada tempat yang terdapat percikan api. Aseton larut dalam air, etanol, eter, kloroform, hampir semua minyak dan minyak mudah menguap (Kemenkes RI, 2020).

3. Kloroform

Kloroform merupakan cairan jernih, tidak berwarna, mudah mengalir, bau eter, rasa manis, mempunyai sifat khas, mudah terbakar, kloroform menguap didekat api yang menyala dan menyebabkan gas yang berbahaya. Kloroform sukar larut dalam air, larut dalam etanol, eter, benzen, heksana dan lemak. Kloroform mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 99,5% $CHCl_3$, sisanya terdiri dari alcohol (Kemenkes RI, 2020).

4. n-Heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh, 2010).

5. Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang paling banyak digunakan karena bersifat murah, aman saat digunakan, serta sangat baik dalam mengekstraksi senyawa alkaloid, fenol, monoglikosida dan glikosida pada tanaman. Sifat semi polar etil asetat dapat menghaluskan banyak bahan bioaktif yang larut pada efektivitas antioksidan dalam menetralkan radikal bebas (Farah *et al.*, 2019).

2.6. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas. Radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (reactive oxygen species atau ROS) adalah senyawa yang dihasilkan dari reaksi oksidasi (Anggraito *et al.*, 2018). Antioksidan akan mengubah sel-sel didalam tubuh menjadi pengaman untuk melawan radikal bebas didalam tubuh (Sulastri *et al.*, 2020). Turunan radikal antioksidan lebih stabil daripada radikal lipid. Radikal antioksidan yang dihasilkan relatif stabil dan tidak memiliki energi yang cukup untuk bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid baru (Anggraito *et al.*, 2018).

Efektivitas aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak murni dapat diukur dengan nilai IC_{50} . Semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin rendah aktivitas antioksidan. Jika nilai $IC_{50} < 50$ bpj maka kriteria senyawa tersebut dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} kuat pada 50-100 bpj, nilai IC_{50} sedang pada 100-150 bpj dan nilai IC_{50} lemah pada 150-200 bpj. Antioksidan dapat digunakan sebagai bahan aditif pada produk pangan sebagai pengawet dengan mencegah kerusakan akibat oksidasi lipid, sebagai pengawet dan perubahan warna serta aroma (Anggraito *et al.*, 2018).

2.6.1. Macam – Macam Antioksidan

Berdasarkan asalnya, antioksidan terbagi menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis.

1. Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetis diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Yang termasuk ke dalam antioksidan sintetis adalah BHA (*butylated hydroxyanisol*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBQH (*tertbutylhydroxy quinone*) dan PG (*propyl gallate*). Penggunaan antioksidan sintetis seperti adalah BHA (*butylated hydroxyanisol*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBQH (*tertbutylhydroxy quinone*) dalam makanan dibatasi karena dianggap karsinogenik. Antioksidan sintetis memiliki beberapa kekurangan yaitu terkait dugaan karsinogenik dan kurang aman jika dikonsumsi secara terus menerus. Oleh karena itu, antioksidan alami dipandang lebih aman karena diperoleh dari ekstrak bahan alami (Anggraito *et al.*, 2018).

2. Antioksidan Alami

Antioksidan alami yang terkandung dalam bahan alami diperoleh dengan cara ekstraksi. Antioksidan alami dapat menghindari efek samping yang disebabkan oleh antioksidan sintetis BHA, BHT dan PG yang sangat toksik (Anggraito *et al.*, 2018). Antioksidan alami dari bahan tumbuhan seperti polifenol (asam fenolik, flavonoid, antosianin, lignan dan stilben), karotenoid (xantofil dan karoten) dan vitamin (vitamin E dan C) menunjukkan berbagai efek biologis yaitu anti inflamasi, antibakteri, antivirus, antipenuaan dan antikanker. Pemilihan proses ekstraksi yang tepat untuk antioksidan alami yaitu hasil dari pertimbangan yang komprehensif dari aspek efisiensi ekstraksi, ekonomi dan lingkungan dari proses ekstraksi yang belum pernah terjadi sebelumnya (Xu *et al.*, 2018).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan terbagi menjadi tiga kelompok, yaitu primer, sekunder dan tersier.

1. Antioksidan Primer

Senyawa yang dapat dengan cepat memberikan atom hidrogen pada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang dihasilkan dapat diubah

menjadi senyawa yang lebih stabil disebut dengan antioksidan primer. Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas baru dan bertindak sebagai pemberi untuk atom hidrogen sehingga dengan cepat dapat diberikan kepada radikal lipid atau mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Yang termasuk kedalam antioksidan primer yaitu enzim SOD, katalase dan GPX (Anggraito *et al.*, 2018).

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder berfungsi untuk memperlambat laju autooksidasi dengan cara menghilangkan radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Yang termasuk antioksidan sekunder yaitu vitamin E, vitamin C dan beta karoten (Anggraito *et al.*, 2018).

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier berfungsi untuk memperbaiki sel dan jaringan yang rusak akibat serangan radikal bebas. Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase (Anggraito *et al.*, 2018).

2.6.2. Metode Uji Aktivitas Antioksidan

1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

DPPH adalah radikal bebas organik berpusat nitrogen yang stabil dengan puncak serapan pada 517 nm. Ini kehilangan penyerapan sebagai menerima elektron atau spesies radikal bebas, yang diamati dengan perubahan warna yang nyata dari ungu menjadi kuning. DPPH dapat menampung banyak sampel dalam waktu singkat dan cukup sensitif untuk mendeteksi bahan aktif pada konsentrasi rendah (Nguyen *et al.*, 2021).

Metode DPPH merupakan metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan bahan alam atau ekstrak tumbuhan. Aktivitas antioksidan diukur dengan menghitung penurunan intensitas cahaya ungu DPPH yang sesuai dengan penurunan konsentrasi DPPH. Pelemahan DPPH disebabkan oleh reaksi antara molekul difenilpikrilhidrazil (DPPH) dengan atom hidrogen yang dilepaskan

dari molekul komponen sampel lalu membentuk senyawa difenilpicrilhidrazin sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Indra *et al.*, 2019).

2. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Prinsip uji FRAP yaitu reaksi transfer elektron dari senyawa antioksidan Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Kelebihan metode FRAP adalah metode yang murah dan cepat, reagen yang digunakan sangat sederhana dan tidak ada alat khusus yang digunakan untuk menghitung total antioksidan. Metode FRAP mencakup tahap pembuatan reagen FRAP, pembuatan larutan standar, penentuan panjang gelombang maksimum, serta pengukuran total antioksidan pada sampel dengan spektrofotometer UV-VIS (Pratama *et al.*, 2018).

Pada prinsipnya pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dapat bekerja dengan baik apabila senyawa antioksidan dapat mereduksi ferri-trypyridyl-triazine (Fe(III) TPTZ) menjadi kompleks ferro-tripyridyl-triazine (Fe(II) TPTZ) (Setiawan *et al.*, 2018).

3. ABTS (2,2 Azinobis 3 Ethylbenzothiazolin 6 Sulfonic Acid)

Metode ABTS (2,2 Azinobis 3 Ethylbenzothiazolin 6 Sulfonic Acid) adalah metode uji untuk mengukur jumlah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi. Uji aktivitas antioksidan ABTS didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menstabilkan senyawa radikal bebas dengan cara mendonorkan radikal proton. Keunggulan ABTS dibandingkan metode lain adalah pengujiannya mudah untuk diulang, sederhana, efektif dan cepat (Imrawati *et al.*, 2017). Metode ABTS yaitu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan yang diperoleh dengan cara mengoksidasi kalium persulfat pada garam diammonium ABTS. Adanya aktivitas antioksidan pada sampel ditunjukkan dengan hilangnya warna biru pada pereaksi ABTS. Besarnya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang menunjukkan nilai konsentrasi larutan sampel dalam mereduksi aktivitas radikal bebas ABTS sebesar 50% (Imrawati *et al.*, 2017).

ABTS memiliki serapan UV-Vis maksimum pada 734 nm. Penurunan absorbansi dapat dipantau dengan spektrofotometri. ABTS dapat bereaksi cepat dengan antioksidan, pengujian ini memiliki keunggulan kecepatan dan kesederhanaan. Selain itu, ABTS tidak terpengaruh oleh kekuatan ionik dan larut dalam pelarut organik dan pelarut berair, sehingga dapat diterapkan di lingkungan yang berbeda untuk mendeteksi aktivitas antioksidan hidrofilik dan menyukai lemak (Xu *et al.*, 2018).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimen kuantitatif. Metode ini dipilih karena pelaksanaannya dilakukan melalui penelitian eksperimental di laboratorium.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Determinasi daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor. Skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Politeknik Akademi Kimia Analisis (AKA) Bogor. Serta penetapan kadar flavonoid, penetapan kadar fenolik dan uji aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Universitas Pamulang (UNPAM).

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dimulai pada bulan April – Juli 2022.

3.3. Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1. Alat Penelitian

Ayakan, blender, kertas saring, timbangan analitik, rotary evaporator, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung, beaker glass (Herma), gelas ukur (Pyrex), erlenmeyer (Borosil), papan spot, batang pengaduk, spatula, labu ukur (Pyrex), corong (Pm), kertas label, oven, spektrofotometer UV-Vis (Aglient), magnetic stirrer, kuvet spektrofotometer, aluminium foil, plastik wrapping, vortex (DLAB), sendok tanduk, mikropipet (Socorex) dan pipet ukur (Iwaki).

3.3.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*), etanol 96%, n-heksan, etil asetat, aquadest, etanol pro analisis (Merck),

asam sulfat, reagen Mayer, reagen Dragendorf, reagen Wagner, Folin-Ciocalteu (Thermo Fisher), serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃, anhidrida asetat, kuersetin, CH₃COOK (kalium asetat), AlCl₃ (aluminium klorida), Na₂CO₃ (natrium karbonat), asam galat (Sigma-Aldrich), kalium persulfat, asam askorbat (vitamin c) dan serbuk ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)) (Sigma-Aldrich).

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) segar berwarna hijau dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor.

3.4.2. Pengumpulan Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*) segar berwarna hijau yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor.

3.4.3. Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun kecibeling segar yang telah dikumpulkan, selanjutnya disortasi untuk memisahkan benda-benda asing dan kontaminan lain yang masih ada dari proses pengumpulan bahan. Daun kecibeling dicuci untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun. Kemudian daun dirajang untuk mempermudah proses pengeringan, lalu dikeringkan dan simplisia daun kecibeling dibuat serbuk. Serbuk yang dihasilkan diayak dengan ayakan *mesh* 60 kemudian ditimbang, dicatat hasilnya dan disimpan dalam wadah.

3.4.4. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun kecibeling dimaserasi menggunakan masing – masing pelarut yaitu 1 L etanol, 1 L n-heksan dan 1 L etil asetat selama 24 jam dan dilakukan 3 kali pengulangan dengan pelarut yang baru (Tutik *et al.*, 2018). Hasil maserasi disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh disatukan lalu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada

suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak kental (Roring *et al.*, 2017). Rendemen dari ekstrak kemudian dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\%$$

3.4.5. Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Uji skrining fitokimia senyawa golongan alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode Culvenor dan Fitzgerald. 5-10 gram bahan tanaman segar diekstraksi dengan kloroform-amoniak kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan 0,5-1 ml asam sulfat 2N ke dalam filtrat dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan ditempatkan dalam tiga tabung reaksi. Dua tetes reagen Mayer ditempatkan di tabung pertama. Dua tetes reagen Dragendorf ditambahkan ke tabung kedua dan dua tetes reagen Wagner ditambahkan ke tabung ketiga. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada tabung pertama dan munculnya endapan coklat kemerahan pada tabung kedua dan ketiga (Endarini, 2016).

2. Uji Flavonoid

Uji skrining flavonoid diidentifikasi dengan mereaksikan 1 mL ekstrak etanol daun kecibeling dengan serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Perubahan warna menjadi merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Rustini & Ariati, 2017).

3. Uji Fenol

Uji skrining fenolik diidentifikasi dengan cara mereaksikan 1 mL ekstrak etanol daun kecibeling dengan 3 tetes larutan FeCl₃. Perubahan menjadi ungu kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol (Rustini & Ariati, 2017).

4. Uji Tanin

Uji skrining tanin dapat dilakukan dengan uji gelatin FeCl_3 . Sebanyak 2 mL ekstrak air dari suatu bagian tanaman ditambahkan ke dalam 2 mL air suling. Selanjutnya, larutan ekstrak tersebut ditetesi dengan satu atau dua tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya kandungan tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap atau hijau kebiruan (Rustini & Ariati, 2017).

5. Uji Terpenoid

Bahan sampel tanaman sebanyak 5 gram diekstraksi dengan 10 mL n-heksan dan disaring. Beberapa ekstrak yang dihasilkan, dikeringkan pada papan spot test, lalu tambahkan 3 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan warna biru hijau (Rivai *et al.*, 2019).

3.4.6. Penetapan Kadar Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Kuersetin sebanyak 5 mg dilarutkan dengan etanol p.a. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas, kemudian dilakukan pengenceran hingga seri konsentrasi larutan standar kuersetin yang terbentuk adalah 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj (Puspitasari *et al.*, 2019).

2. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid dalam masing-masing ekstrak yaitu ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan daun kecibeling dilakukan dengan melarutkan 0,2 g ekstrak dengan etanol p.a volume dicukupkan hingga 10 mL dan dihomogenkan. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan mengambil 2 mL masing-masing larutan ekstrak lalu ditambahkan dengan etanol p.a pada labu takar 25 mL hingga tanda batas bawah. Selanjutnya sampel ekstrak etanol 96%, etil asetat dan n-heksan masing-masing dipipet 1000 μL ditambahkan AlCl_3 10% 200 μL dan 200 μL CH_3COOK 1M, kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 436,2 nm. Kadar flavonoid total dihitung dari kurva baku kuersetin. Kandungan flavonoid

total dinyatakan sebagai jumlah mg ekuivalen kuersetin tiap gram ekstrak. mendapatkan keakuratan data (Rusdi *et al.*, 2018).

3.4.7. Penetapan Kadar Fenolik

1. Pembuatan Larutan Asam Galat

Sebanyak 5 mg asam galat ditimbang, lalu ditambahkan dengan etanol p.a pada labu takar 25 mL hingga tanda batas bawah. Kemudian dilakukan pengenceran hingga seri konsentrasi larutan standar kuersetin yang terbentuk adalah 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj (Puspitasari *et al.*, 2019).

2. Penetapan Kadar Fenolik

Masing-masing larutan ekstrak dipipet sebanyak 0,2 g kemudian dicukupkan dengan 10 mL etanol p.a. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan mengambil 2 mL masing-masing larutan ekstrak lalu ditambahkan dengan etanol p.a pada labu takar 25 mL hingga tanda batas bawah. Sebanyak 125 μ L sampel ekstrak ditambahkan 250 μ L reagen Folin-Ciocalteu dan 2,5 ml Na_2CO_3 kemudian divorteks, diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada 743 nm yang akan memberikan kompleks biru. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 mg sampel segar. Nilai fenolik total dinyatakan dalam Gallic Acid Equivalents (GAE) tiap 100 g berat kering ekstrak (Herlinda *et al.*, 2019).

3.4.8. Pengujian Antioksidan dengan metode ABTS

1. Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 5 mg, dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 25 mL hingga tanda batas. Kemudian dilakukan pengenceran hingga konsentrasi larutan baku vitamin C yang terbentuk adalah 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj (Nasir *et al.*, 2021).

2. Pembuatan Larutan Induk ABTS

Ditimbang serbuk ABTS 71 mg dan serbuk kalium persulfat 35 mg, kemudian masing- masing dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a. Larutan diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap. Larutan keduanya dicampur, kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol sampai 250 mL (Setiawan *et al.*, 2018).

3. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol 96 %, Etil Asetat dan Ekstrak n-Heksan Daun Kejibeling

Ekstrak etanol 96 %, etil asetat dan n-heksan ditimbang sebanyak 200 mg dimasukkan ke dalam masing-masing beker glass 50 mL, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL menggunakan bantuan magnetic stirrer dengan kecepatan 300 rpm (hingga terlarut sempurna), disaring dengan kertas saring ke dalam labu takar 25 mL kemudian ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (Puspitasari *et al.*, 2019).

4. Uji Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak daun kejobeling yang sudah disiapkan, dibuat seri konsentrasin 3,2; 8; 16; 32; 80; 200 dan 400 bpj. Lalu masing-masing larutan ekstrak diambil 0,5 mL dan direaksikan dengan 2 mL larutan ABTS, divorteks dan diinkubasi selama 30 menit. Proses di atas sama halnya pada pengujian penangkapan radikal pada vitamin C dan blanko (tanpa ekstrak). Kemudian absorbansi ekstrak, vitamin C, dan blanko diukur pada 734 nm menggunakan spektrofotometer UV Vis (Nasir *et al.*, 2021).

5. Perhitungan IC50 (Faisal, 2019)

Nilai persentase inhibisi yang diwakili oleh nilai IC50 dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi ekstrak}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi Blanko = Absorbansi yang tidak mengandung sampel

Absorbansi Ekstrak = Absorbansi yang mengandung ekstrak sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, n-heksan daun kejobeling dengan metode peredaman radikal bebas ABTS dihitung dengan

menentukan *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Perhitungan nilai IC₅₀ menggunakan nilai konsentrasi tanaman kecibeling (sumbu X) dan % inhibisi (sumbu Y) (Amir *et al.*, 2020). Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan :

$$y = ax + b$$

Keterangan:

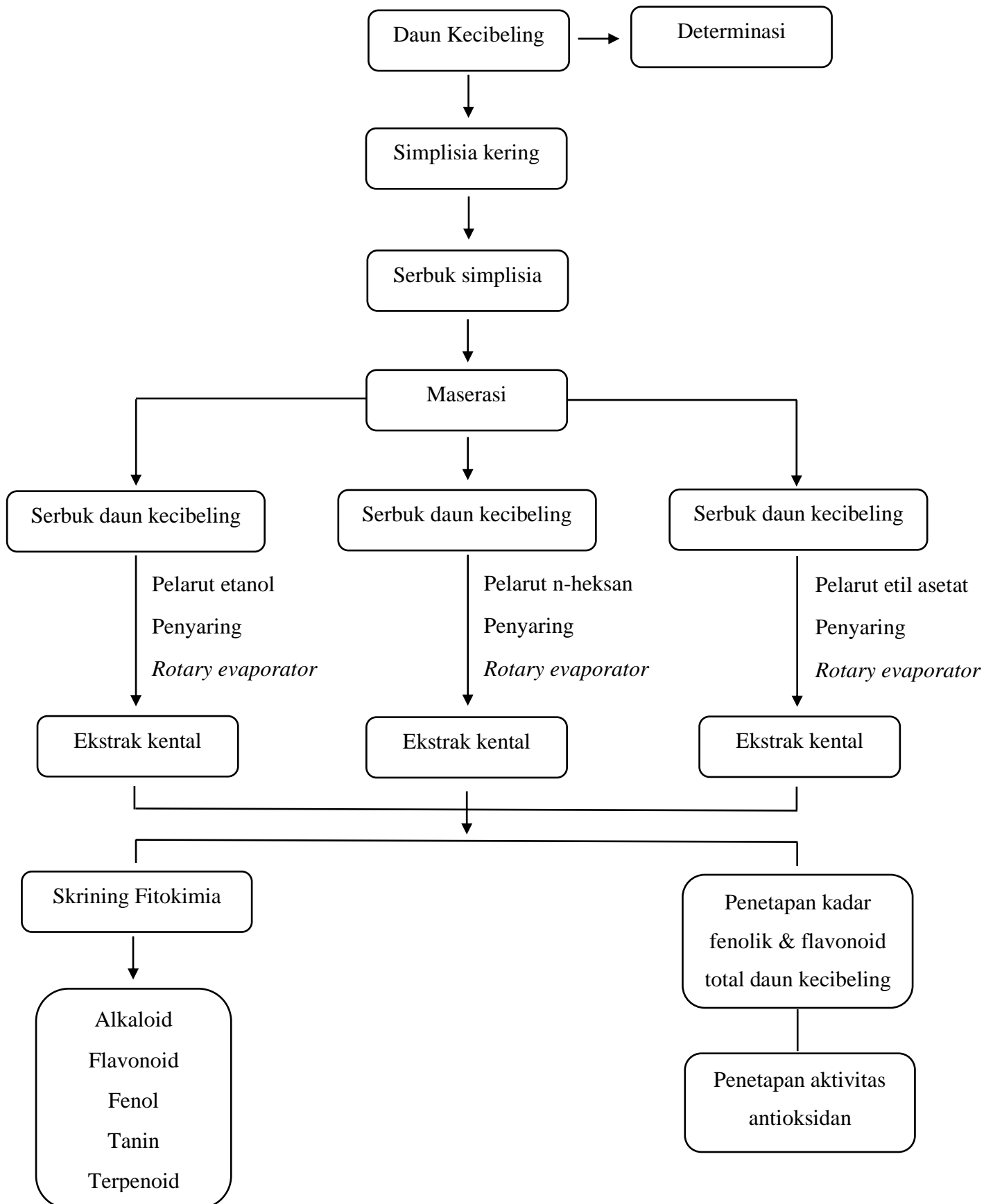
$$y = 50$$

a = intersep

$$x = \text{IC}_{50}$$

b = slop

Gambar 3.1 Skema Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman Uji

Determinasi tanaman adalah proses mengidentifikasi secara spesifik nama dan spesies tanaman. Hal ini dikarenakan ketika suatu tanaman digunakan dalam berbagai keperluan seperti penelitian, bahan baku obat dan sebagainya maka perlu menggunakan tanaman yang sesuai agar hasil yang diperoleh dapat seobjektif mungkin. Pada penelitian kali ini, tanaman yang digunakan yaitu daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*). Daun Kecibeling segar dideterminasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar tanaman kecibeling (*Strobilanthes crispus*). Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian. Hasil penelitian dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2. Hasil Ekstraksi Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*)

Pada penelitian ini menggunakan tiga pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya dengan tujuan untuk mengetahui pelarut mana yang memiliki nilai aktivitas tertinggi dalam uji antioksidan. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu dengan cara maserasi, metode ini dipilih karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan.

Filtrat etanol, etil asetat dan n-heksan yang diperoleh dari penyarian kemudian dilakukan pemekatan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil rata-rata % rendemen ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut yaitu pada etanol sebesar 8,17%, pada etil asetat sebesar 2,48% dan pada n-heksan sebesar 1,29%. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yaitu pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.), pada ekstrak etanol memiliki nilai % rendemen tertinggi yaitu sebesar 12,69%, kemudian diikuti oleh ekstrak etil asetat yaitu sebesar 8,73% dan nilai % rendemen terendah yaitu pada ekstrak n-heksan sebesar 4,76% (Tutik *et al.*, 2018). Perhitungan nilai persen rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.1 dan dapat dilihat pada lampiran 2.

Tabel 4.1 Hasil Perhitungan % Rendemen Ekstrak Etanol 96%, Etil Asetat Dan n-Heksan Pada Daun Kecibeling (*Strobilanthes crispus*)

Jenis Pelarut	Pengulangan	Berat Sampel Kering (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Persen Rendemen (%)	Rata-Rata Persen Rendemen (%)	Stdev (%)
Etanol 96%	1	100	8,18	8,18	8,17	0,017
	2	100	8,18	8,18		
	3	100	8,15	8,15		
Etil Asetat	1	100	2,50	2,50	2,48	0,020
	2	100	2,46	2,46		
	3	100	2,48	2,48		
n-Heksan	1	100	1,26	1,26	1,29	0,025
	2	100	1,28	1,28		
	3	100	1,31	1,31		

Beberapa faktor dapat mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan seperti perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut etanol memiliki rendemen paling tinggi, diikuti rendemen pada ekstrak etil asetat dan rendemen pada ekstrak n-heksan secara berturut-turut. Tingginya rendemen yang terdapat pada pelarut etanol menunjukkan bahwa etanol mampu mengekstrak lebih banyak senyawa yang memiliki sifat kepolaran tinggi. Sedangkan rendemen pada ekstrak etil asetat lebih rendah dari ekstrak etanol tetapi lebih tinggi dari ekstrak n-heksan, hal ini dikarenakan adanya gugus etoksi dalam struktur kimia etil asetat yang dapat menyebabkan etil asetat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel (Tursiman et al., 2012). Ikatan hidrogen yang terbentuk pada pelarut etil asetat lebih lemah dibandingkan dengan ikatan hidrogen yang terbentuk pada pelarut etanol sehingga mempengaruhi hasil rendemen dari pelarut etil asetat yang lebih sedikit. Nilai rendemen terkecil terdapat pada n-heksana, hal ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang bersifat nonpolar pada daun kecibeling dengan jumlah yang sedikit. (Romadanu et al., 2014).

4.3. Skrining Fitokimia

Setelah didapat ekstrak kental dari daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimia dari ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan. Uji skrining fitokimia yang dilakukan adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan terpenoid. Adapun hasil skrining fitokimia dari ekstrak daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kecibeling

Pengujian	Pereaksi	Hasil		
		Etanol 96%	Etil asetat	n-heksan
Alkaloid	Mayer, Dragendorf, Wagner	+	-	-
Flavonoid	FeCl ₃	+	+	+
Fenol	Serbuk Mg + HCL pekat	+	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+	-
Terpenoid	Asam asetat anhidrida+ asam sulfat	-	+	+

Keterangan :

(+) Ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Ekstrak tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol pada daun kecibeling menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin, sedangkan pada ekstrak etil asetat menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, fenol, tanin dan terpenoid, sedangkan ekstrak n-heksan menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, fenol dan terpenoid. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yaitu skrining fitokimia dengan menggunakan ekstrak etanol pada daun kecibeling menunjukkan hasil yang sama yaitu dengan adanya senyawa metabolit sekunder golongan fenol, tanin, flavonoid dan alkaloid (Rivai *et al.*, 2019).

Uji alkaloid menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa alkaloid ketika ekstrak ditambahkan reagen Mayer membentuk endapan putih dan endapan coklat kemerahan ketika ditambahkan reagen Dragendorf dan reagen Wagener. Uji fenol menggunakan pereaksi FeCl₃ menunjukkan hasil berwarna

ungu kehitaman pada ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan. Uji flavonoid pada seluruh ekstrak bereaksi saat penambahan serbuk Mg dan HCL pekat yang menunjukkan terbentuknya warna merah hingga merah. Uji tanin menggunakan pereaksi FeCl_3 menunjukkan hasil positif dengan timbulnya warna hijau gelap atau hijau kebiruan pada ekstrak etanol dan etil asetat. Uji terpenoid pada ekstrak etil asetat dan n-heksan menunjukkan reaksi kimia yang diinginkan saat penambahan asam asetat anhidrida dan asam sulfat sehingga tidak terbentuk warna biru hijau (Rivai *et al.*, 2019).

4.4. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid daun kecibeling diuji menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 436,2 nm. Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan larutan kuersetin sebagai larutan standar. Kuersetin digunakan sebagai larutan standar karena kuersetin dapat membentuk kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keton pada atom C-4 dan dengan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dengan flavon dan flavonol. Dilakukan pengukuran absorbansi kuersetin dengan konsentrasi 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj untuk membuat kurva kalibrasi. Pengukuran kurva kalibrasi dilakukan agar dapat mengetahui persamaan garis linier untuk menentukan kadar senyawa dalam sampel (Rivai *et al.*, 2019).

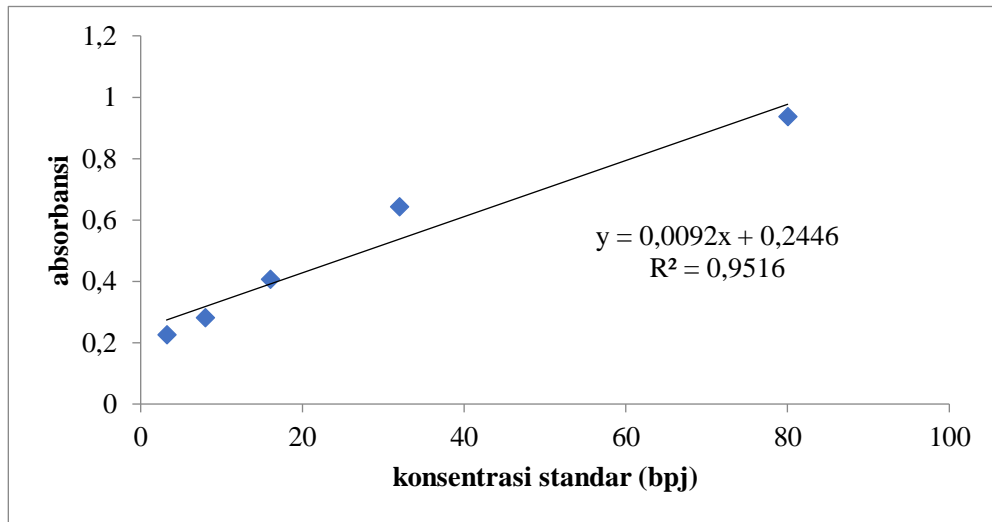
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Kuersetin

Konsentrasi (bpj)	Absorbansi
3,2	0,2271
8	0,2828
16	0,4072
32	0,6434
80	0,9366

Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dilakukan untuk mendapatkan persamaan regresi linear sehingga dapat dihitung kadar senyawa flavonoid yang didalam daun kecibeling. Penentuan kurva standar diperoleh dari regresi linier antara kadar kuersetin pada sumbu x dan absorbansi pada sumbu y. Hasil persamaan kurva baku yang didapatkan yaitu sebesar $y = 0,0092x + 0,2446$ dengan nilai R

sebesar 0,9516 yaitu mendekati angka 1 (gambar 4.1). Nilai R mendekati 1 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat dan berbanding lurus antara konsentrasi dan absorbansi. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi absorbansinya (Puspitasari *et al.*, 2019).

Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Kuersetin



Flavonoid merupakan senyawa fenolik alami yang ditemukan terdapat hampir di semua tanaman. Flavonoid terdapat pada daun, akar, pohon, kulit kayu, serbuk sari, nektar, bunga, buah dan biji (Gusnedi, 2013). Penetapan kadar flavonoid dilakukan agar dapat mengetahui seberapa besar kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan pada daun kecibeling. Sebanyak 1 ml masing-masing larutan ekstrak ditambahkan dengan AlCl_3 sebanyak 0,2 ml dan CH_3COOK sebanyak 0,2 ml kemudian divorteks dan diinkubasi selama 30 menit dengan tujuan agar reaksi berjalan sempurna sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal (Rivai *et al.*, 2019). Penambahan AlCl_3 ke dalam larutan sampel agar terjadi perubahan panjang gelombang pada arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning dan sampel dapat membentuk larutan kompleks, sedangkan penambahan CH_3COOK bertujuan untuk menstabilkan pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan kuersetin (Syamsul *et al.*, 2019). Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan sebanyak 3 kali ulangan untuk mendapatkan keakuratan data. Hasil kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai Quercetin ekuivalen (QE) /g ekstrak yaitu jumlah kesetaraan mg kuersetin dalam 1 gram sampel.

Tabel 4.4 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Daun Kecibeling

Ekstrak	Ulangan	Kadar Flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Rata-Rata Kadar Flavonoid (mgQE/g ekstrak)	Stdev
Etanol 96%	1	71,03	60,67	11,36
	2	48,52		
	3	62,45		
Etil Asetat	1	73,83	67,42	8,38
	2	70,49		
	3	57,94		
n-heksan	1	112,47	111,53	9,93
	2	101,16		
	3	120,96		

Kadar flavonoid tertinggi pada ekstrak n-heksan yaitu sebesar 111,53 mgQE/g ekstrak kemudian pada ekstrak etil asetat sebesar 67,42 mgQE/g ekstrak dan kadar flavonoid terendah terdapat pada ekstrak etanol 96% yaitu sebesar 60,67 mgQE/g ekstrak. Berdasarkan hasil yang didapat, penetapan kadar flavonoid tertinggi yaitu pelarut non polar. Hal ini dikarenakan, terdapat beberapa jenis senyawa flavonoid yang dapat larut dalam pelarut non polar saja seperti aglikon polimetoksi atau isoflavone, yang gugus gula atau bentuk glikosidanya sudah terlepas sehingga hanya dapat larut dalam pelarut non polar yaitu n-heksan (R. Satria et al., 2022).

Jenis pelarut yang digunakan akan mempengaruhi jumlah flavonoid yang terekstraksi, hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut untuk melarutkan senyawa flavonoid yang berbeda-beda, tergantung pada tingkat kepolaran suatu pelarut dan senyawa yang diekstraksi. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut dalam pelarut dengan polaritas yang sama. Setiap jenis flavonoid memiliki kepolaran yang berbeda sesuai dengan jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid, sehingga akan mempengaruhi kelarutan flavonoid dalam pelarut. Hal ini karena sifat kimia senyawa flavonoid yang dimiliki setiap tanaman bervariasi dari yang sederhana sampai senyawa flavonoid yang kompleks (Suryani et al., 2015).

4.5. Hasil Penetapan Kadar Fenolik

Kadar total fenol merupakan dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan, karena diketahui senyawa fenolik berperan dalam mencegah terjadinya oksidasi, sehingga semakin tinggi kadar total fenol pada suatu sampel maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Kandungan total senyawa fenolik dalam ekstrak tergantung pada polaritas pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Tingginya kelarutan senyawa fenol dalam pelarut polar menghasilkan konsentrasi tinggi ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut polar pada saat ekstraksi (Djapiala *et al.*, 2013).

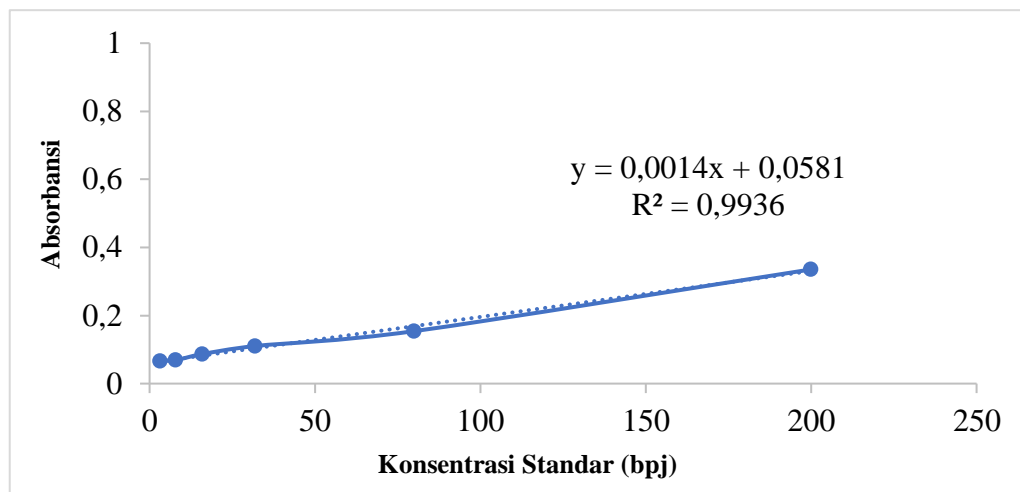
Kandungan fenolik total pada daun kecibeling ditentukan dengan reagen Folin-Ciocalteu menggunakan metode spektrofotometer dan asam galat sebagai larutan standar. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik akan membentuk senyawa kompleks berwarna biru dengan intensitas warna yang sesuai bila direaksikan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (Indra *et al.*, 2019). Sedangkan asam galat digunakan sebagai larutan standar karena merupakan salah satu senyawa fenolik yang alami dan stabil. Asam galat akan bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dan menghasilkan warna kuning yang menunjukkan bahwa mengandung senyawa fenolik, setelah itu ditambah dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa (Rivai *et al.*, 2019). Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil dari senyawa fenol bereaksi dengan Folin-Ciocalteu, membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang tidak dapat diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenol yang terbentuk, yang artinya semakin tinggi konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolik yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga memberikan warna biru yang lebih pekat (Apsari & Susanti, 2011).

Dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dari berbagai konsentrasi yaitu 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 743 nm. Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat yang diperoleh dibuat kurva kalibrasi.

Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

Konsentrasi (bpj)	Absorbansi
3,2	0,0666
8	0,0692
16	0,0868
32	0,1104
80	0,1541
200	0,3354

Penetapan kurva baku asam galat menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi asam galat sebagai sumbu x dan absorbansi asam galat dengan pereaksi Folin-ciocalteu sebagai sumbu y (Puspitasari *et al.*, 2019). Hasil pengukuran larutan standar asam galat diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = 0,0014x + 0,0581$ dengan nilai R sebesar 0,9936 mendekati 1, dapat dikatakan terdapat linieritas hubungan antara konsentrasi asam galat dengan hasil absorbansinya.

Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Asam Galat

Kandungan total senyawa fenolik dalam ekstrak daun kecibeling dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang telah diperoleh. Kandungan total senyawa fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE) karena struktur kimia senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak tidak diketahui (Indra *et al.*, 2019). Hasil kandungan total fenolik,

dinyatakan sebagai miligram setara asam galat (mg GAE) (Gallic Acid Equivalent) yaitu jumlah kesetaraan mg asam galat dalam 1 gram sampel. GAE merupakan acuan umum yang digunakan untuk mengukur sejumlah senyawa fenol yang terdapat dalam sampel (Mulyanita *et al.*, 2019).

Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Fenolik Pada Ekstrak Daun Kecibeling

Ekstrak	Ulangan	Kadar Fenolik (mg GAE/g ekstrak)	Rata-Rata Kadar Fenolik (mg GAE/g ekstrak)	Stdev
Etanol 96%	1	10,83	10,73	0,58
	2	11,25		
	3	10,10		
Etil Asetat	1	12,68	12,27	0,61
	2	11,57		
	3	12,56		
n-heksan	1	23,76	21,10	2,40
	2	19,14		
	3	20,40		

Dari tabel hasil penetapan kadar fenolik dari berbagai ekstrak didapatkan hasil bahwa ekstrak n-heksan memiliki kandungan kadar fenolik lebih besar dari pada ekstrak etanol 96 % dan ekstrak etil asetat. Kadar fenolik tertinggi pada ekstrak n-heksan yaitu sebesar 21,10 mg GAE/g ekstrak kemudian pada ekstrak etil asetat sebesar 12,27 mg GAE/g ekstrak dan kadar fenolik terendah terdapat pada ekstrak etanol 96% yaitu sebesar 10,73 mg GAE/g ekstrak. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, penetapan kadar fenolik tertinggi yaitu pelarut non polar. Hal ini terjadi karena tidak hanya fenol yang bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu akan tetapi bereaksi dengan zat pereduksi lain. Kemungkinan ada komponen lain yang dapat bereaksi dengan reagen seperti gula atau asam askorbat (Akowuah *et al.*, 2004) .

Polaritas pelarut merupakan salah satu faktor terpenting untuk memperoleh suatu senyawa fitokimia, sesuai dengan prinsip “*like dissolves like*” dimana reagen polar akan larut dalam pelarut polar, begitupun sebaliknya. Sebagian besar kelarutan senyawa fenolik tidak selalu terdapat pada ekstrak polar, tergantung pada struktur senyawa fenolik yang ditemukan. Tingkat kepolaran ditunjukkan oleh nilai konstanta dielektrik. Dalam penelitian ini diduga adanya berbagai komponen fenol

yang terdapat dalam ekstrak daun kecibeling kisaran polaritas dari non-polar, semi polar sampai polar (Mulyanita *et al.*, 2019). Jadi, dapat dikatakan bahwa pelarut yang mempunyai konstanta dielektrikum n-heksan (1,89) mampu mengekstraksi fenol dari bahan dengan efektif (Sri Yulianthi *et al.*, 2017).

4.6. Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu tanaman dalam menghambat radikal bebas. Pengujian ABTS dilakukan pada penelitian ini karena metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH dan dapat dipakai untuk menganalisa antioksidan. Kemampuan senyawa antioksidan antara DPPH dan ABTS memiliki perbedaan mekanisme reaksinya. Kemampuan antioksidan suatu senyawa pada uji DPPH berdasarkan kemampuan mendonorkan hidrogen. Sedangkan kemampuan senyawa antioksidan pada uji ABTS didasarkan pada kemampuan menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton. Uji antioksidan dengan metode ABTS berdasarkan hilangnya warna biru akibat tereduksinya ABTS oleh antioksidan. Intensitas warna biru ini diukur pada panjang gelombang 734 nm. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun kecibeling dapat dilihat dengan vitamin C sebagai pembanding (Sami & Rahimah, 2019).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada daun kecibeling dengan menggunakan variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat n-heksan untuk menentukan pelarut mana yang mengandung nilai IC_{50} yang baik serta mendekati *range*. Nilai IC_{50} kuat pada 50-100 bpj, nilai IC_{50} sedang pada 100-150 bpj dan nilai IC_{50} lemah pada 150-200 bpj. Antioksidan dapat digunakan sebagai bahan aditif pada produk pangan sebagai pengawet dengan mencegah kerusakan akibat oksidasi lipid, sebagai pengawet dan perubahan warna serta aroma (Anggraito *et al.*, 2018). Larutan pembanding vitamin C dibuat dengan konsentrasi 3,2; 8; 16; 32; 80; dan 200 bpj dan dilakukan dua kali pengulangan maka diperoleh nilai rata-rata IC_{50} sebesar 1,388 bpj.

Tabel 4.7 Nilai IC₅₀ Larutan Pembanding Vitamin C

Konsentrasi	Absorbansi		% inhibisi		Rata-rata IC ₅₀ (bpj)	Stdev
	1	2	1	2		
3,2	0,0521	0,0537	53,36%	51,92%	1,388	0,216
8	0,0365	0,0299	67,32%	73,23%		
16	0,0284	0,0248	74,57%	77,80%		
32	0,0206	0,0196	81,56%	82,45%		
80	0,0102	0,0119	90,87%	89,35%		
200	0,0079	0,0057	92,93%	94,90%		

Metode ABTS merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari oksidasi kalium persulfat dengan garam diammonium ABTS. Adanya aktivitas antioksidan pada sampel ditunjukkan dengan hilangnya warna biru pada pereaksi ABTS. Besarnya aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi sampel larutan yang dibutuhkan untuk mereduksi aktivitas radikal bebas ABTS sebesar 50%.

Tabel 4.8 Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan N-Heksan Daun Kecibeling

Sampel	Konsentrasi (bpj)	Absorbansi		% Inhibisi		Rata-rata Nilai IC ₅₀ (bpj)	Stdev
		1	2	1	2		
Ekstrak etanol daun kecabeling	3,2	0,1011	0,0997	47,01	47,75	3,994	0,665
	8	0,0894	0,0967	53,14	49,32		
	16	0,0589	0,0715	69,13	62,53		
	32	0,0449	0,0584	76,47	69,39		
	80	0,0328	0,0578	82,81	69,71		
	200	0,0237	0,0431	87,58	77,41		
	400	0,0127	0,0327	93,34	82,86		
Ekstrak etil asetat daun kecabeling	3,2	0,0811	0,0821	35,53	34,74	7,130	0,244
	8	0,0573	0,0547	54,45	56,52		
	16	0,0497	0,0554	60,49	55,96		
	32	0,0395	0,0395	68,60	68,60		
	80	0,0276	0,0276	78,06	78,06		
	200	0,0227	0,0291	81,96	76,87		
	400	0,0172	0,0202	86,33	83,94		
Ekstrak n-heksan daun kecabeling	3,2	0,0701	0,0683	42,78	44,24	10,147	0,424
	8	0,0605	0,0656	50,61	46,45		
	16	0,0621	0,0543	49,31	55,67		
	32	0,0505	0,0523	58,78	57,31		
	80	0,0484	0,0475	60,49	61,22		
	200	0,0387	0,0375	68,41	69,39		
	400	0,0321	0,0247	73,80	79,84		

Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} , ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} terkecil yaitu sebesar 3,994 bpj dibandingkan dengan ekstrak etil asetat sebesar 7,130 bpj dan n-heksan sebesar 10,147 bpj. Sedangkan hasil pengukuran aktivitas antioksidan nilai vitamin C diperoleh nilai rata-rata IC_{50} sebesar 1,388 bpj. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kecibeling. Hal ini dikarenakan vitamin C merupakan senyawa murni hasil isolasi yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sedangkan ekstrak masih dalam bentuk campuran senyawa yang kemungkinan memiliki khasiat yang beragam (Fitriani *et al.*, 2019). Hal ini sudah dipastikan karena vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga aktivitas antioksidan yang dimiliki pun lebih besar dibandingkan dengan formula lainnya (Zaky *et al.*, 2022).

Semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin rendah aktivitas antioksidan, maka jika nilai $IC_{50} < 50$ mg/L maka kriteria senyawa tersebut dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat (Anggraito *et al.*, 2018). Berdasarkan hal tersebut maka ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan pada daun kecibeling dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat baik dari pelarut polar maupun non polar karena memiliki nilai $IC_{50} < 50$ bpj. Hasil yang sama juga juga diperoleh pada penelitian (Sulastri *et al.*, 2020) dimana menghasilkan nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

Aktivitas antioksidan suatu ekstrak tumbuhan tidak hanya terbatas pada senyawa fenolik dan flavonoid saja. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa kadar senyawa flavonoid dan fenolik pada ekstrak n-heksan tidak berperan dalam menentukan besarnya aktivitas antioksidan daun kecibeling. Oleh karena itu, tidak ada hubungan antara kadar fenolik dan flavonoid total ketika membandingkan aktivitas antioksidan antar ekstrak tumbuhan (Akowuah *et al.*, 2004). Perbedaan aktivitas yang dihasilkan oleh setiap ekstrak disebabkan karena adanya perbedaan jumlah dan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam setiap ekstrak, sehingga aktivitas antioksidan yang diperoleh berbeda. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksan, hal ini diduga karena terdapat senyawa aktif dari beberapa kelompok

senyawa antioksidan yang bersifat polar dibandingkan dengan kelompok senyawa non polar yang terdapat pada daun kecibeling (Purwanto *et al.*, 2017).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol daun kecibeling menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin, sedangkan pada ekstrak etil asetat menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, fenol, tanin dan terpenoid, sedangkan pada ekstrak n-heksan menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, fenol dan terpenoid.
2. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kecibeling (*Strobilanthes crispus*) menghasilkan rata-rata kadar total flavonoid berturut-turut sebesar 60,6703 mgQE/g ekstrak, 67,4215 mgQE/g ekstrak dan 111,5308 mgQE/g ekstrak. Kemudian pada kadar total fenolik berturut-turut sebesar 10,7277 mgGAE/g ekstrak, 12,2705 mgGAE/g ekstrak dan 21,1005 mg GAE/g ekstrak.
3. Nilai IC_{50} yang dihasilkan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun kecibeling berturut-turut sebesar 3,994 bpj, 7,130 bpj dan 10,147 bpj.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas antioksidan pada daun kecibeling dengan menggunakan variasi pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan dengan menggunakan metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adibi, S., Nordan, H., Ningsih, S. N., Kurnia, M., & Rohiat, S. (2017). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN *Strobilanthes crispus* Bl (Keji Beling) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *ALOTROP Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1, 148–154. file:///C:/Users/User/Downloads/Documents/3547-6386-1-SM_2.pdf
- Akouwah, G. A., Zhari, I., Norhayati, I., Sadikun, A., & Khamsah, S. M. (2004). Sinensetin, eupatorin, 3'-hydroxy-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of *Orthosiphon stamineus* from Malaysia. *Food Chemistry*, 87(4), 559–566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.008>
- Amir, M., Ullu, A., & Kusmiati. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Sarang Semut (*Hydnophytum Formicarum* Jack) dengan Metode ABTS dan Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan LC-MS Antioxidant. *Jurnal Archives Pharmacia*, 2(1), 43–54.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). Metabolit Sekunder Dari Tanaman. In *Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang*.
- Apsari, P. D., & Susanti, H. (2011). *PERBANDINGAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK METANOL KELOPAK MERAH DAN UNGU BUNGA ROSELLA (Hibiscus sabdariffa , Linn) SECARA SPEKTROFOTOMETRI*. 73–78.
- Berniyanti, titiek. (2020). *BIOMAKER TOKSISITAS Paparan Logam Tingkat Molekur*. https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625

- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djapiala, F. Y., Montolalu, L. A., & Mentang, F. (2013). KANDUNGAN TOTAL FENOL DALAM RUMPUT LAUT *Caulerpa racemosa* YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2). <https://doi.org/10.35800/mthp.1.2.2013.1859>
- Endarini, L. H. (2016). FARMAKOGNISI DAN FITOKIMIA. *Pusat Pendidikan SDM Kesehatan*, 131–132.
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS. *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2 (1), 1–5.
- Farah, J., Yuliar, & Marpaung, M. P. (2019). Ekstrak Etil Asetat Daun Jambu Biji Merah (*Psidium Guajava* L.) Sebagai Antioksidan Secara in Vitro. *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*, 8(2), 78–86. <https://doi.org/10.37090/jfl.v8i2.143>
- Fitriani, N., Herman, & Rijai, L. (2019). Antioksidan Ekstrak Daun Sumpit (*Brucea javanica* (L.) Merr) dengan Metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 57–62.
- Gusnedi, R. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76–83.
- Heliawati, L. (2018). Kimia Organik Bahan Alam. *Universitas Pakuan Bogor*. <https://doi.org/10.52574/syiahkualauniversitypress.298>
- Herlinda, A., Malik, A., & Najib, A. (2019). PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DARI EKSTRAK ETANOL BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) BERWARNA UNGU MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(1), 119–123. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i1.170>
- Imrawati, Mus, S., Gani, S. A., & Bubua, K. I. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan

- Metode ABTS Imrawati, Mus, S., Gani, S. A., & Bubua, K. I. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun kersen (*Muntingia calabura L .*) Menggunakan. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(2), 59–62.
- Indra, Nurmalasari, N., & Kusmiati, M. (2019). Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescense Blume.*). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3), 206–212. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.206-212.2019>
- Julianawati, T., Hendarto, H., & Widjiati. (2020). Penetapan Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa pterygosperma Gaertn.*). *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 11(1), 49–54. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/mdl-20203177951%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0887-9%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0884-z%0Ahttps://doi.org/10.1080/13669877.2020.1758193%0Ahttp://serisc.org/journals/index.php/IJAST/article>
- Kemenkes RI. (2020). Farmakope Indonesia edisi VI. In *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kurniawati, I. F., & Sutoyo, S. (2021). Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (*Artocarpus Altilis [Park.I] Fosberg*) Sebagai Bahan Antioksidan Alami. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 1–11.
- Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., & Farma, S. A. (2021). *Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas*. 390–399.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L .*). *MIPA UNSRAT*, 9(2), 64–69.
- Mulyanita, Djali, M., & Setiasih, I. S. (2019). Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Limbah Kulit Lidah Buaya (*Aloe chinensis baker*).

- Jurnal Vokasi Kesehatan*, 5(2), 95–102. <http://ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id/index.php/JVK>
- Munawaroh, S. dan A. H. (2010). Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*, 2(1), 73–78.
- Muqowwiyah, L. Z., & Dewi, R. K. (2021). Potensi Ekstrak Daun Alpukat sebagai Anti Kolesterol. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, 1(3), 403–412. <https://doi.org/10.21154/jtii.v1i3.397>
- Nasir, N. H., Pusmarani, J., & Filmaharani. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik Daging Buah Semangka dan FRAP. *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 7(2), 223–235.
- Nguyen, N. V. T., Duong, N. T., Nguyen, K. N. H., Bui, N. T., Pham, T. L. T., Nguyen, K. T., Le, P. H., & Kim, K. H. (2021). Effect of extraction solvent on total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity of *avicennia officinalis*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2), 2678–2690. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.26782690>
- Nugroho, A. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).
- Nur, S., Sami, F. J., R. W., Awaluddin, A., & Afsari, M. I. A. (2019). Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(1), 33–42. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034>
- Nurraihana, H., & A, N.-H. N. (2013). Phytochemistry, pharmacology and toxicology properties of *Strobilanthes crispus*. *International Food Research Journal*, 20(5), 2045–2056.
- Pratama, M., Muflihunna, A., & Octaviani, N. (2018). ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDIAAN PROPOLIS YANG BEREDAR DI KOTA MAKASSAR DENGAN METODE FRAP (Ferric Reducing Antioxidant

- Power). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 10(1), 11–18.
<https://doi.org/10.33096/jifa.v10i1.312>
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnasjiwa (*Kopsia arborea* Blume.). *Kovalen*, 3(1), 24–32.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., & Faizah, N. G. A. (2019). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT, DAN n-HEKSAN DAUN PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.). *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*, V(1). https://doi.org/10.1007/978-94-007-1764-0_90
- Rachman, F. A., & Ardiansyah, S. (2019). Ekstrak Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L.) Untuk Penurunan Kadar Kolesterol Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Journal of Medical Laboratory Science Technology*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.21070/medicra.v2i1.1648>
- Rivai, H., Apriyeni, M. Q., & Misfadhila, S. (2019). ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF DARI EKSTRAK HEKSAN, ASETON, ETANOL DAN AIR DARI DAUN KEJI BELING (*Strobilanthes crista* Blume). *March*, 1–13. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20451.60963>
- Rizal, S., & Triana, S. (2019). Inventarisasi Dan Identifikasi Tanaman Bekhasiat Obat Di Kabupaten Musi Banyuasin Sumatera Selatan. *Indobiosains*, 1(2), 50. <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v1i2.3199>
- Roring, N., Yudistira, A., & Lolo, W. A. (2017). Standardisasi Parameter Spesifik Dan Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dari Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispa* (L.) Blume). *Pharmakon*, 6(3), 176–185. <https://doi.org/10.35799/pha.6.2017.16882>
- Rusdi, M., Hasan, T., Ardillah, A., & Evianti, E. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Batang *Boehmeria virgata*. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 16–24. <https://doi.org/10.24252/djps.v1i1.6426>
- Rustini, N. L., & Ariati, N. K. (2017). *Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol*

Daun Ungu. 5(2), 145–151.

- Saidi, N., Ginting, B., Murniana, & Mustanir. (2018). *ANALISIS METABOLIT SEKUNDER* (1st ed.). Syiah Kuala University Press. https://books.google.co.id/books?hl=id&lr=&id=sJHPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Analisis+metabolit+sekunder+pada+tumbuhan+erat+kaitannya+dengan+pengambilan,+penentuan,+identifikasi+dan+penyimpanan+suat+sampel&ots=8-aMM-JBdj&sig=LdrtQmPZ9N2cdF_KBtgaSvQT2-w&red
- Sami, F. J., & Rahimah, S. (2019). BROKOLI (*Brassica oleracea L . var . Italica*) DENGAN METODE (2 , 2 azinobis (3-etilbenzotiazolin) -6-asam sulfonat). *Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107–110.
- Santoso, H. B. (2019). *Seri Mukjizat Daun Kejibeling*. pohon cahaya semesta.
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*, 4(1), 33–46. <https://doi.org/10.36079/lamintang.jetas-0401.353>
- Satria, W. P. (2015). Kitab Herbal Nusantara: Aneka Resep & Ramuan Tanaman Obat Untuk Berbagai Gangguan Kesehatan. In *Kata Hati*. Yogyakarta. Hal. KATAHATI.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Silalahi, M. (2020). Pemanfaatan Kecibeling (*Strobilanthes crispa*) Sebagai Obat Tradisional dan Bioaktivitasnya. *Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains*, IX, 196–205.
- Sri Yulianthi, N. N., Suhendra, L., & Wrsiati, L. P. (2017). Pengaruh Perbandingan Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Total Fenol , α -Tokoferol , dan Total Karotenoid Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(4), 1–10.
- Sulastri, L., Oktavia, I., & Simanjuntak, P. (2020). Antioxidant activity of

- Kecibeling, Red Mangrove, and Star Gooseberry at different extraction methods and extract Ratiosm. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Dan Obat*, 31(1), 1–7.
<http://www.ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/bultro/article/view/10167>
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M., & Jambe, A. A. G. N. A. (2015). *PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN MATOA (Pometia pinnata)*. 1–10.
- Syahara, S., & Vera, Y. (2020). Penyuluhan Pemanfaatan Buah Tomat Sebagai Produk Kosmetik Antioksidan Alami Di Desa Manunggang Julu. *Education and Development Institut*, 8(1), 21–22.
- Syamsul, E. S., Hakim, Y. yunita, & Nurhasnawati, H. (2019). PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK DAUN KELAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm . F .) Bedd .) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1), 11–20.
- Tutik, Dwipayana, I. N. A., & Elsyana, V. (2018). Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 1(2), 80–87.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. Bin. (2017). Antioksidan Alami dalam Makanan dan Tanaman Obat: Ekstraksi, Penilaian, dan Sumber Daya. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 20–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. Bin. (2018). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 20–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Zaky, M., Pratiwi, D., & Mianah. (2022). Formulasi dan uji aktivitas antioksidan. *Farmagazine*, IX(1), 10–19.

Lampiran

Lampiran 1. Hasil Determinasi



DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH
(Directorate of Scientific Collection Management)
BADAN RISET DAN INOVASI NASIONAL
 Jl. Raya Jakarta – Bogor Km. 46, Cibinong 16911, Indonesia
 Email: inacc@brin.go.id Website: www.brin.go.id

Nomor : B-1075/IV/DI.05.07/4/2022 18 April 2022
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). **Tika Dwi Yolanda**
 ISTN

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Keji Beling	<i>Strobilanthes crispa</i> (L.) Blume	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah
 Badan Riset dan Inovasi Nasional

 TT ELEKTRONIK

Dr. Ir. Hendro Wicaksono, M.Sc., Eng



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSR.E, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 2. Perhitungan % Rendemen Ekstrak

a. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Etanol 96%

1. Pengulangan ke-1

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 8,18 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{8,18 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 8,18 \% \end{aligned}$$

2. Pengulangan ke-2

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 8,18 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{8,18 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 8,18 \% \end{aligned}$$

3. Pengulangan ke-3

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 8,15 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{8,15 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 8,15 \% \end{aligned}$$

Rata-rata % rendemen ekstrak etanol 96%

$$\frac{8,18 + 8,18 + 8,15}{3} = 8,17 \%$$

b. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Etil Asetat

1. Pengulangan ke-1

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 2,50 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{2,50 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 2,50 \% \end{aligned}$$

2. Pengulangan ke-2

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 2,46 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{2,46 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 2,46 \% \end{aligned}$$

3. Pengulangan ke-3

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 2,48 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{2,48 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 2,48 \% \end{aligned}$$

Rata-rata % rendemen ekstrak etil asetat

$$\frac{2,50 + 2,46 + 2,48}{3} = 2,48 \text{ gram}$$

c. Perhitungan% Rendemen Ekstrak n-heksan

1. Pengulangan ke-1

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 1,26 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{1,26 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 1,26 \% \end{aligned}$$

2. Pengulangan ke-2

Berat serbuk = 100 gram

Berat ekstrak = 1,28 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{1,28 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 1,28 \% \end{aligned}$$

3. Pengulangan ke-3

Berat serbuk = 100 gram



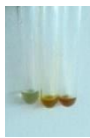




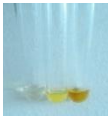
Berat ekstrak = 1,31 gram








$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{1,31 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 1,31 \% \end{aligned}$$

Rata-rata % rendemen ekstrak etanol 96%

$$\frac{1,26 + 1,28 + 1,31}{3} = 1,29 \text{ gram}$$

Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia

No.	Nama Sampel	Pengamatan	Parameter	Keterangan
1	Ekstrak Etanol 96% Daun Kecibeling		Fenolik	Positif
			Terpenoid	Negatif
			Alkaloid (Meyer, Wagner, Dragendorff)	Positif
			Flavonoid	Positif
			Tanin	Positif
2	Kejibeling Etil Asetat		Fenolik	Positif
			Terpenoid	Positif
			Alkaloid (Meyer, Wagner, Dragendorff)	Negatif

			Flavonoid	Positif
			Tanin	Positif
3	Kejibeling N-Heksan		Fenolik	Positif
			Terpenoid	Positif
			Alkaloid (Meyer, Wagner, Dragendorff)	Negatif
			Flavonoid	Positif
			Tanin	Negatif

Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Larutan (bpj)

a. Perhitungan Konsentrasi Larutan Standar Kuersetin 5 mg dengan Etanol 25 ml

$$\text{Konsentrasi awal} = \frac{5}{25 \times 10^{-3}} = \mathbf{200 \text{ bpj}}$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 10 = 25 \cdot M_2$$

$$\frac{200 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{80 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 10 = 25 \cdot M_2$$

$$\frac{80 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{32 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 2 = 25 \cdot M_2$$

$$\frac{200 \cdot 2}{25} = M_2$$

$$\mathbf{16 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 1 = 25 \cdot M_2$$

$$\frac{80 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{3,2 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 1 = 25 \cdot M_2$$

$$\frac{200 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{8 \text{ bpj}} = M_2$$

b. Perhitungan Konsentrasi Larutan Standar Asam Galat 5 mg dengan Etanol 25 ml

$$\text{Konsentrasi awal} = \frac{5}{25 \times 10^{-3}} = \mathbf{200 \text{ bpj}}$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 10 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{80 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 10 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{80 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{32 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 2 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 2}{25} = M_2$$

$$\mathbf{16 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 1 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{80 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{3,2 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 1 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{8 \text{ bpj}} = M_2$$

c. **Perhitungan Konsentrasi Larutan Standar Vitamin C 5 mg dengan Etanol 25 ml**

$$\text{Konsentrasi awal} = \frac{5}{25 \times 10^{-3}} = \mathbf{200 \text{ bpj}}$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 10 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{80 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 10 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{80 \cdot 10}{25} = M_2$$

$$\mathbf{32 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 2 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 2}{25} = M_2$$

$$\mathbf{16 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 1 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{80 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{3,2 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 1 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{200 \cdot 1}{25} = M_2$$

$$\mathbf{8 \text{ bpj}} = M_2$$

d. **Perhitungan Konsentrasi Larutan ekstrak 200 mg dengan Etanol 10 ml**

$$\text{Konsentrasi awal} = \frac{200}{10 \times 10^{-3}} = \mathbf{20.000 \text{ bpj}}$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$20000 \cdot 2 = M_2 \cdot 25$$

$$\frac{20000 \cdot 2}{25} = M_2$$

$$\mathbf{1600 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 4 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{80 \cdot 4}{10} = M_2$$

$$\mathbf{32 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1600 \cdot 2,5 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{1600 \cdot 2,5}{10} = M_2$$

$$\mathbf{400 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$80 \cdot 1 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{80 \cdot 1}{10} = M_2$$

$$\mathbf{8 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$400 \cdot 5 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{400 \cdot 5}{10} = M_2$$

$$\mathbf{200 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$32 \cdot 5 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{32 \cdot 5}{10} = M_2$$

$$\mathbf{16 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$200 \cdot 4 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{200 \cdot 4}{10} = M_2$$

$$\mathbf{80 \text{ bpj}} = M_2$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$16 \cdot 2 = M_2 \cdot 10$$

$$\frac{16 \cdot 2}{10} = M_2$$

$$\mathbf{3,2 \text{ bpj}} = M_2$$

Lampiran 5. Penetapan Kadar Flavonoid Daun Kecibeling

Pelarut	Ulangan	Uji	Absorbansi	Intersep	Slope	Konsentrasi (bpj)	Volume (L)	Fp	Massa Ekuivalen Ag	Massa Sampel (g)	Konsentrasi Sampel (mg GAE/g)	Rata-rata Ulangan	Rata-rata Sampel	Stdev
Etanol 96%	1	1	0,7853	0,2446	0,0092	58,772	0,01	25	14,693	0,2	73,465	71,033	60,670	11,360
		2	0,7621	0,2446	0,0092	56,250	0,01	25	14,063	0,2	70,313			
		3	0,7548	0,2446	0,0092	55,457	0,01	25	13,864	0,2	69,321			
	2	1	0,6209	0,2446	0,0092	40,902	0,01	25	10,226	0,2	51,128	48,524		
		2	0,5919	0,2446	0,0092	37,750	0,01	25	9,438	0,2	47,188			
		3	0,5924	0,2446	0,0092	37,804	0,01	25	9,451	0,2	47,255			
	3	1	0,6952	0,2446	0,0092	48,978	0,01	25	12,245	0,2	61,223	62,455		
		2	0,7053	0,2446	0,0092	50,076	0,01	25	12,519	0,2	62,595			
		3	0,7123	0,2446	0,0092	50,837	0,01	25	12,709	0,2	63,546			
Etil Asetat	1	1	0,8099	0,2446	0,0092	61,446	0,01	25	15,361	0,2	76,807	73,832	67,421	8,376
		2	0,7718	0,2446	0,0092	57,304	0,01	25	14,326	0,2	71,630			
		3	0,7823	0,2446	0,0092	58,446	0,01	25	14,611	0,2	73,057			
	2	1	0,7926	0,2446	0,0092	59,565	0,01	25	14,891	0,2	74,457	70,489		
		2	0,7453	0,2446	0,0092	54,424	0,01	25	13,606	0,2	68,030			
		3	0,7523	0,2446	0,0092	55,185	0,01	25	13,796	0,2	68,981			
	3	1	0,6772	0,2446	0,0092	47,022	0,01	25	11,755	0,2	58,777	57,944		
		2	0,6659	0,2446	0,0092	45,793	0,01	25	11,448	0,2	57,242			
		3	0,6701	0,2446	0,0092	46,250	0,01	25	11,563	0,2	57,813			
N-Heksan	1	1	1,1961	0,2446	0,0092	103,424	0,01	25	25,856	0,2	129,280	112,473	111,531	9,929
		2	1,0653	0,2446	0,0092	89,207	0,01	25	22,302	0,2	111,508			
		3	0,9558	0,2446	0,0092	77,304	0,01	25	19,326	0,2	96,630			

	2	1	0,9449	0,2446	0,0092	76,120	0,01	25	19,030	0,2	95,149	101,164		
		2	1,0173	0,2446	0,0092	83,989	0,01	25	20,997	0,2	104,986			
		3	1,0053	0,2446	0,0092	82,685	0,01	25	20,671	0,2	103,356			
	3	1	1,3012	0,2446	0,0092	114,848	0,01	25	28,712	0,2	143,560	120,956		
		2	1,0811	0,2446	0,0092	90,924	0,01	25	22,731	0,2	113,655			
		3	1,0222	0,2446	0,0092	84,522	0,01	25	21,130	0,2	105,652			

Lampiran 6. Penetapan Kadar Fenolik Daun Kecibeling

Pelarut	Ulangan	Uji	Absorbansi	Intersep	Slope	Konsentrasi (bpj)	Volume (L)	Fp	Massa Ekuivalen Ag	Massa Sampel (g)	Konsentrasi Sampel (mg GAE/g)	Rata-rata Ulangan	Rata-rata Sampel	Stdev
Etanol 96%	1	1	0,3152	0,2446	0,0092	7,674	0,01	25	1,918	0,2	9,592	10,829	10,728	0,580
		2	0,3104	0,2446	0,0092	7,152	0,01	25	1,788	0,2	8,940			
		3	0,3473	0,2446	0,0092	11,163	0,01	25	2,791	0,2	13,954			
	2	1	0,3254	0,2446	0,0092	8,783	0,01	25	2,196	0,2	10,978	11,250		
		2	0,3288	0,2446	0,0092	9,152	0,01	25	2,288	0,2	11,440			
		3	0,3280	0,2446	0,0092	9,065	0,01	25	2,266	0,2	11,332			
	3	1	0,3163	0,2446	0,0092	7,793	0,01	25	1,948	0,2	9,742	10,104		
		2	0,3252	0,2446	0,0092	8,761	0,01	25	2,190	0,2	10,951			
		3	0,3154	0,2446	0,0092	7,696	0,01	25	1,924	0,2	9,620			
Etil Asetat	1	1	0,3380	0,2446	0,0092	10,152	0,01	25	2,538	0,2	12,690	12,681	12,271	0,612
		2	0,3378	0,2446	0,0092	10,130	0,01	25	2,533	0,2	12,663			
		3	0,3380	0,2446	0,0092	10,152	0,01	25	2,538	0,2	12,690			
	2	1	0,3276	0,2446	0,0092	9,022	0,01	25	2,255	0,2	11,277	11,567		
		2	0,3222	0,2446	0,0092	8,435	0,01	25	2,109	0,2	10,543			
		3	0,3394	0,2446	0,0092	10,304	0,01	25	2,576	0,2	12,880			
	3	1	0,3456	0,2446	0,0092	10,978	0,01	25	2,745	0,2	13,723	12,563		
		2	0,3354	0,2446	0,0092	9,870	0,01	25	2,467	0,2	12,337			
		3	0,3302	0,2446	0,0092	9,304	0,01	25	2,326	0,2	11,630			
n-Heksan	1	1	0,4202	0,2446	0,0092	19,087	0,01	25	4,772	0,2	23,859	23,764	21,101	2,391
		2	0,4239	0,2446	0,0092	19,489	0,01	25	4,872	0,2	24,361			
		3	0,4144	0,2446	0,0092	18,457	0,01	25	4,614	0,2	23,071			

	2	1	0,3817	0,2446	0,0092	14,902	0,01	25	3,726	0,2	18,628	19,139		
		2	0,3771	0,2446	0,0092	14,402	0,01	25	3,601	0,2	18,003			
		3	0,3976	0,2446	0,0092	16,630	0,01	25	4,158	0,2	20,788			
	3	1	0,3821	0,2446	0,0092	14,946	0,01	25	3,736	0,2	18,682	20,399		
		2	0,4157	0,2446	0,0092	18,598	0,01	25	4,649	0,2	23,247			
		3	0,3864	0,2446	0,0092	15,413	0,01	25	3,853	0,2	19,266			

Lampiran 7. Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

1. Ekstrak Etanol Daun Kecibeling

Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel		% Inhibisi		IC ₅₀ (bpj)	
		1	2	1	2	1	2
3,2	0,1908	0,1011	0,0997	47,01%	47,75%	3,523	4,464
8	0,1908	0,0894	0,0967	53,14%	49,32%		
16	0,1908	0,0589	0,0715	69,13%	62,53%		
32	0,1908	0,0449	0,0584	76,47%	69,39%		
80	0,1908	0,0328	0,0578	82,81%	69,71%		
200	0,1908	0,0237	0,0431	87,58%	77,41%		
400	0,1908	0,0127	0,0327	93,34%	82,86%		
Rata-Rata IC ₅₀ (bpj)						3,994	

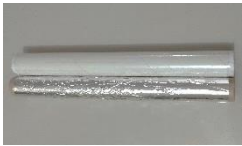















2. Ekstrak Etil Asetat Daun Kecibeling















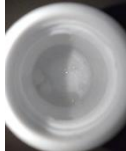

Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel		% Inhibisi		IC ₅₀ (bpj)	
		1	2	1	2	1	2
3,2	0,1258	0,0821	0,0811	34,74%	35,53%	6,957	7,302
8	0,1258	0,0547	0,0573	56,52%	54,45%		
16	0,1258	0,0554	0,0497	55,96%	60,49%		
32	0,1258	0,0395	0,0395	68,60%	68,60%		
80	0,1258	0,0276	0,0276	78,06%	78,06%		
200	0,1258	0,0291	0,0227	76,87%	81,96%		
400	0,1258	0,0202	0,0172	83,94%	86,33%		
Rata-Rata IC ₅₀ (bpj)						7,130	

3. Ekstrak N-Heksan Daun Kecibeling

Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel		% Inhibisi		IC ₅₀ (bpj)	
		1	2	1	2	1	2
3,2	0,1225	0,0683	0,0701	44,24%	42,78%	10,446	9,847
8	0,1225	0,0656	0,0605	46,45%	50,61%		
16	0,1225	0,0543	0,0621	55,67%	49,31%		
32	0,1225	0,0523	0,0505	57,31%	58,78%		
80	0,1225	0,0475	0,0484	61,22%	60,49%		
200	0,1225	0,0375	0,0387	69,39%	68,41%		
400	0,1225	0,0247	0,0321	79,84%	73,80%		
Rata-Rata IC ₅₀ (bpj)						10,147	

Lampiran 8. Alat dan Bahan

 <p>Aluminium Foil & Plasting Wrapping</p>	 <p>Batang Pengaduk</p>	 <p>Beaker Glass</p>
 <p>Botol Gelap</p>	 <p>Corong</p>	 <p>Erlenmeyer</p>
 <p>Gelas Ukur</p>	 <p>Labu Takar</p>	 <p>Vorteks</p>
 <p>Spatula</p>	 <p>Sendok Tanduk</p>	 <p>Mikropipet</p>
 <p>Pipet Ukur</p>	 <p>Pipet Tetes</p>	 <p>Spektrofotometer UV-Vis</p>
 <p>Tabung reaksi dan Rak Tabung Reaksi</p>	 <p>Tabung Reaksi Tutup Ullir</p>	 <p>Kuvet</p>

 <p>Timbangan Analitik</p>	 <p>Kertas Saring</p>	 <p>Rotary evaporator</p>
 <p>Akuadest</p>	 <p>Etanol 96%</p>	 <p>Etil Asetat</p>
 <p>n-heksan</p>	 <p>Etanol pro analis</p>	 <p>Serbuk Natrium Karbonat</p>
 <p>Serbuk Vitamin C</p>	 <p>Serbuk ABTS</p>	 <p>Serbuk Kuersetin</p>
 <p>Folin-Ciocalteu</p>	 <p>Serbuk Asam Galat</p>	 <p>Serbuk Kalium Persulfat</p>
 <p>Serbuk Kalium Asetat</p>		

Lampiran 9. Sertifikat Asam Galat

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

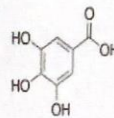
Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of AnalysisProduct Name:
Gallic acid - 97.5-102.5% (titration)

Product Number: G7384
 Batch Number: SLBW1278
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 149-91-7
 MDL Number: MFCD00002510
 Formula: C₇H₆O₅
 Formula Weight: 170.12 g/mol
 Quality Release Date: 20 OCT 2017



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Beige	Off-White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Faint Yellow	Almost Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear to Very Slightly Hazy	Clear
50 mg/mL, EtOH		
Loss on Drying	≤ 10 %	3 %
Purity (GC)	≥ 98.5 %	100.0 %
Titration by NaOH (dry basis)	97.5 - 102.5 %	99.5 %

Rodney Burbach, Manager
 Analytical Services
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Lampiran 10. Sertifikat Vitamin C

**Selleckchem.com**

Bioactive Compounds Expert (Bioactive Compounds, Compound Libraries)

Certificate of Analysis

Vitamin C

Product Name: Vitamin C

Catalog Number: S3114

Batch Number: S311401

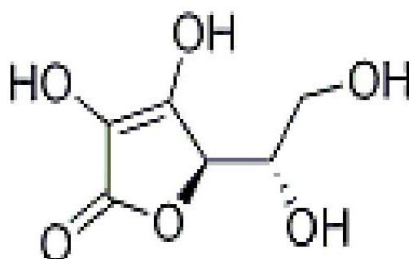
Physical and chemical propertiesMolecular Formula: $C_6H_8O_6$

Molecular Weight: 176.12

CAS No.: 50-81-7

Stability: 3 years -20°C powder2 years -80°C in solvent

Molecular Structure:

**Analytical data**

HPLC: 99.94% purity | NMR: Consistent with structure

Lampiran 11. Sertifikat Folin-Ciocalteu

ThermoFisher
SCIENTIFIC

The world leader
in serving science

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT NAME: Folin & Ciocalteu Phenol Reagent 2.0N

PRODUCT NUMBER: 1856007

LOT NUMBER: RH238165

SPECIFICATIONS:

VISUAL: Pale yellow to dark green-yellow liquid, free of particulate matter.

CONCENTRATION: 1.9 - 2.1N

RESULTS:

VISUAL: Pale yellow to dark green-yellow liquid, free of particulate matter.

CONCENTRATION: 2.0N

Publish Date: 8/30/2020

Liam F. Garrity, Senior Manager, Analytical Services
Laboratory



[Rev.001]

Products are warranted to operate or perform substantially in conformance with published Product specifications in effect at the time of sale, as set forth in the Product documentation, specifications and/or accompanying package inserts ("Documentation"). No claim of suitability for use in applications regulated by FDA is made. The warranty provided herein is valid only when used by properly trained individuals. Unless otherwise stated in the Documentation, this warranty is limited to one year from date of shipment when the Product is subjected to normal, proper and intended usage. This warranty does not extend to anyone other than Buyer. Any model or sample furnished to Buyer is merely illustrative of the general type and quality of goods and does not represent that any Product will conform to such model or sample. NO OTHER WARRANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, ARE GRANTED, INCLUDING WITHOUT LIMITATION, IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY, FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE, OR NON-INFRINGEMENT. BUYER'S EXCLUSIVE REMEDY FOR NON-CONFORMING PRODUCTS DURING THE WARRANTY PERIOD IS LIMITED TO REPAIR, REPLACEMENT OF OR REFUND FOR THE NON-CONFORMING PRODUCT(S) AT SELLER'S SOLE OPTION. THERE IS NO OBLIGATION TO REPAIR, REPLACE OR REFUND FOR PRODUCTS AS THE RESULT OF (I) ACCIDENT, DISASTER OR EVENT OF FORCE MAJEURE, (II) MISUSE, FAULT OR NEGLIGENCE OF OR BY BUYER, (III) USE OF THE PRODUCTS IN A MANNER FOR WHICH THEY WERE NOT DESIGNED, OR (IV) IMPROPER STORAGE AND HANDLING OF THE PRODUCTS. Unless otherwise expressly stated on the Product or in the documentation accompanying the Product, the Product is intended for research only and is not to be used for any other purpose, including without limitation, unauthorized commercial uses, in vitro diagnostic uses, ex vivo or in vivo therapeutic uses, or any type of consumption by or application to humans or animals.

Pierce Biotechnology
3747 N. Meridian Road

PO Box 117
Rockford, IL 61105 USA

(800) 874-3723 tel
(815) 968-0747 tel

(815) 968-7316 fax
www.thermoscientific.com/pierce

Lampiran 12. Sertifikat ABTS

Sigma-Aldrich

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

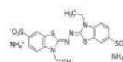
Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt - $\geq 98\%$ (HPLC)

Product Number: A1888
 Batch Number: SLCH3887
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 30931-67-0
 MDL Number: MFCD00010404
 Formula: C₁₈H₂₄N₆O₆S₄
 Formula Weight: 548.68 g/mol
 Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C
 Quality Release Date: 17 SEP 2020
 Recommended Retest Date: SEP 2024




Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Faint Green to Green and Light Green-Yellow to Dark Green-Yellow	Green-Yellow
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Very Faint Green to Green to Green-Yellow	Green
Solubility (Turbidity) 10 mg/mL, H ₂ O	Clear to Slightly Hazy	Clear
Suitability Suitable as a reagent for peroxidase	Suitable	Suitable
Water (by Karl Fischer)	$\leq 2\%$	2 %
Purity (HPLC)	$\geq 98\%$	100 %
¹³ C NMR Identity	Conforms to Structure	Conforms
Proton NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms

Brian Dulle, Supervisor
 Quality Assurance
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



Lampiran 13. Sertifikat Etanol Pro Analisis



Certificate of Analysis

1.00983.2500 Ethanol absolute for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur
Batch 11157183

	Spec. Values		Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99.9	%	99.9	%
Identity (IR)	conforms		conforms	
Appearance	conforms		conforms	
Color	≤ 10	Hazen	< 5	Hazen
Solubility in water	conforms		conforms	
Acidity or alkalinity	≤ 30	ppm	≤ 30	ppm
Titration acid	≤ 0.0002	meq/g	0.0001	meq/g
Titration base	≤ 0.0002	meq/g	< 0.0002	meq/g
Density (d 20 °C/20 °C)	0.790 - 0.793		0.791	
UV absorption	conforms		conforms	
Aldehydes (as Acetaldehyd)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Fusel oils	conforms		conforms	
Substances reducing potassium permanganate (as O)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Substances reducing permanganate (ACS)	conforms		conforms	
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.003	%	≤ 0.003	%
Readily carbonizable substances	conforms		conforms	
Acetone, Isopropyl Alcohol (ACS)	conforms		conforms	
Acetone (GC)	≤ 0.001	%	< 0.001	%
Ethylmethylketone (GC)	≤ 0.02	%	< 0.01	%
Isoamyl alcohol (GC)	≤ 0.05	%	< 0.01	%
2-Propanol (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Higher alcohols (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Volatile impurities (GC) (Acetaldehyde and Acetal)	≤ 10	ppm	< 10	ppm
Volatile impurities (GC) (Benzene)	≤ 2	ppm	< 1	ppm
Volatile impurities (GC) (Methanol)	≤ 100	ppm	< 50	ppm
Volatile impurities (GC) (Total of other impurities)	≤ 300	ppm	< 100	ppm
Volatile impurities (GC) (disregard limit)	≤ 9	ppm	9	ppm
Chloride (Cl)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Nitrate (NO ₃)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Phosphate (PO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Sulfate (SO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Ag (Silver)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
As (Arsenic)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Au (Gold)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Be (Beryllium)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Bi (Bismuth)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ca (Calcium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000

Page 1 of 2

Lampiran 14 . Sertifikat Kuersetin

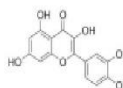


3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
 Quercetin - $\geq 95\%$ (HPLC), solid

Product Number: Q4951
 Batch Number: SLCJ0103
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 117-39-5
 Formula: C₁₅H₁₀O₇
 Formula Weight: 302.24 g/mol
 Quality Release Date: 10 DEC 2020



Test	Specification	Result
Appearance (Color) Yellow	Conforms	Conforms
Appearance (Form)	Powder	Powder
¹ H NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Loss on Drying	$\leq 4\%$	3 %
Purity (HPLC)	$\geq 95\%$	97 %



Brian Dulle, Supervisor
 Quality Assurance
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

