



**PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TUMBUHAN
PAKU DI KABUPATEN JOMBANG DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

Oleh

Hariz Zasi Putri Tejowati

NIM 162210101014

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2021



**PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TUMBUHAN
PAKU DI KABUPATEN JOMBANG DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Hariz Zasi Putri Tejowati.

NIM 162210101014

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2021

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak Suprabdi dan Ibu Komsatun tercinta yang telah memberikan seluruh kasih sayang, doa, serta pengorbanannya yang tiada henti demi kelancaran dan kesuksesan saya;
3. Kakak Hadaina Wulan Rahayu, S.K.M tercinta yang senantiasa memberikan semangat dan doa;
4. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak dan Ibu guru SMA Negeri 2 Jombang, SMP Negeri 1 Ngoro, dan TK Trisula 5 Ngoro yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTO

“Bukanlah ilmu yang semestinya mendatangimu, tetapi kamulah yang seharusnya
mendatangi ilmu itu”
(Imam Malik)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”
(QS Al Insyirah 5)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hariz Zasi Putri Tejowati

NIM : 162210101014

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku di Kabupaten Jombang dengan Menggunakan Metode DPPH” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Februari 2021

Yang menyatakan,

(Hariz Zasi Putri Tejowati)

NIM 162210101014

SKRIPSI

**PENETAPAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TUMBUHAN
PAKU DI KABUPATEN JOMBANG DENGAN
MENGUNAKAN METODE DPPH**

Oleh:

Hariz Zasi Putri Tejowati

NIM 162210101014

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku di Kabupaten Jombang dengan Menggunakan Metode DPPH” telah diuji dan disahkan pada hari, tanggal : Jumat, 22 Januari 2021
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama, Dosen Pembimbing Anggota,

apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc.
NIP. 198504282009121004

apt. Ika P. Dewi, S.Farm., M.Biomed
NIP 198406132008122001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm
NIP. 198204062006042001

apt. Dian Agung P,S.Farm.,M.Farm.
NIP.198410082008121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku di Kabupaten Jombang dengan Menggunakan Metode DPPH: Hariz Zasi Putri Tejowati: 162210101014; 2021; 97 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Pola hidup masyarakat yang tidak sehat dan adanya perubahan lingkungan yang buruk seperti polusi udara dapat menyebabkan tubuh terpapar radikal bebas. Kurangnya pengetahuan tentang sumber radikal bebas dan bahayanya bagi tubuh sehingga masyarakat tidak menyadari apabila terpapar senyawa radikal bebas. Adanya radikal bebas yang tinggi dalam tubuh dapat memicu berbagai penyakit kronis dan degeneratif serta proses penuaan dan beberapa patologi akut (trauma, stroke). Beberapa penyakit yang dipicu oleh radikal bebas pada manusia seperti penyakit Alzheimer, penyakit ginjal, kanker, fibrosis, kelainan reperfusi jantung, dan lain-lain.

Tubuh manusia memiliki mekanisme untuk melawan serangan dari radikal bebas dengan adanya pembentukan antioksidan endogen. Senyawa antioksidan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Jika jumlah antioksidan endogen dalam tubuh tidak mencukupi maka dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen. Antioksidan dari luar tubuh dapat diperoleh dari makanan dan tanaman obat, seperti buah-buahan, sayuran, sereal, jamur, minuman, bunga, rempah-rempah dan jamu tradisional.

Penggunaan bahan alam yang umum digunakan sebagai antioksidan adalah tumbuhan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami adalah tanaman Paku (*Pteridophyta*). Tanaman paku merupakan tanaman vaskular yang tersebar luas di seluruh Indonesia. Ada sekitar 12.000 spesies paku di seluruh dunia dan 1.300 diantaranya ditemukan di Indonesia.

Pada penelitian ini dilakukan penelitian penetapan aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol tumbuhan paku yang diambil dari kawasan jalan menuju Air Terjun Tretes Kembar Jarak Wonosalam Kabupaten Jombang. Adapun tumbuhan paku yang diteliti antara lain *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans*

(J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi antioksidan dan kandungan fitokimia pada tumbuhan paku (*Pteridophyta*) di kawasan tersebut. Proses ekstraksi tumbuhan paku ini menggunakan pelarut metanol terdestilasi dengan perbandingan 1:10 menggunakan metode maserasi dan remaserasi. Setelah itu dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui adanya golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan fenolat. Eluen yang digunakan pada proses skrining adalah etil asetat, asam asetat glasial, dan air dengan perbandingan 8:2:0,7. Setelah itu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dengan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari yang tertinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah ekstrak *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H. Shing sebesar $45,994 \pm 0,566 \mu\text{g/mL}$, *Adiantum tenerum* SW sebesar $71,994 \pm 0,737 \mu\text{g/mL}$, *Adiantum philippense* Linn sebesar $74,407 \pm 0,584 \mu\text{g/mL}$, dan *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott sebesar $144,998 \pm 0,865 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak tumbuhan paku *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott, *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing, *Adiantum philippense* Linn dan *Adiantum tenerum* SW terkandung golongan senyawa terpenoid, fenolat dan flavonoid. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa keempat sampel memiliki perbedaan bermakna yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 pada uji *one way ANOVA* dan uji *post hoc LSD*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku di Kabupaten Jombang Menggunakan Metode DPPH”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan S1 di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari dan mengakui bahwa terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari upaya, doa, arahan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Allah SWT, atas segala rahmat dan petunjuk-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir guna mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Bapak Suprabdi dan Ibu Komsatun tercinta yang telah memberikan seluruh kasih sayang, doa, serta pengorbanannya yang tiada henti demi kelancaran dan kesuksesan saya.
3. Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
4. Bapak apt. Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu apt. Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed. selaku dosen pembimbing anggota yang selalu memberikan bimbingan, dukungan, arahan, perhatian dan semangat pada penulis hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm dan Bapak apt. Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M.Farm. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini. Ibu apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan arahan, perhatian dan dukungan dari awal menjadi mahasiswa hingga saat ini.
6. Segenap dosen dan seluruh staf akademik atas bantuan berupa ilmu, fasilitas serta pendidikan pada penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

7. Ibu Wayan, Mbak Hany, Ibu Widi dan Mbak Parka selaku laboran yang membantu melakukan penelitian di laboratorium.
8. Kakak Hadaina Wulan Rahayu, S.K.M tercinta yang senantiasa memberikan semangat dan doa;
9. Mas Aninditya Dwi Prasetya yang selalu memberikan dukungan, semangat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
10. Sahabat Jombangan Elin, Jeni, Jihan, Nisak yang selalu memberikan nasehat, semangat hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Sahabat nongki Maya, Akbar, Femil, Ihza, Samsuri, Miyah yang memberikan semangat, keceriaan, dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi.
12. Teman seperguruan Jihan, Caca, Zion, dan Febrian yang selalu memberi masukan dan saran serta motivasi dan dukungan pada penulis.
13. Teman seperjuangan Tiara dan Ella yang saling memberikan semangat dan nasehat dalam menyelesaikan penelitian ini.
14. Seluruh teman-teman MORFIN Angkatan 2016 khususnya kelas A
15. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, yang telah banyak membantu penulis untuk menyelesaikan pendidikan strata satu di Fakultas Farmasi Universitas Jember

Penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak agar skripsi ini menjadi lebih baik dikarenakan sebagai manusia biasa skripsi ini banyak memiliki kekurangan dan jauh dari sempurna. Semoga skripsi ini banyak memberikan manfaat kepada pembaca dan perkembangan ilmu

Jember, 2 Februari 2021

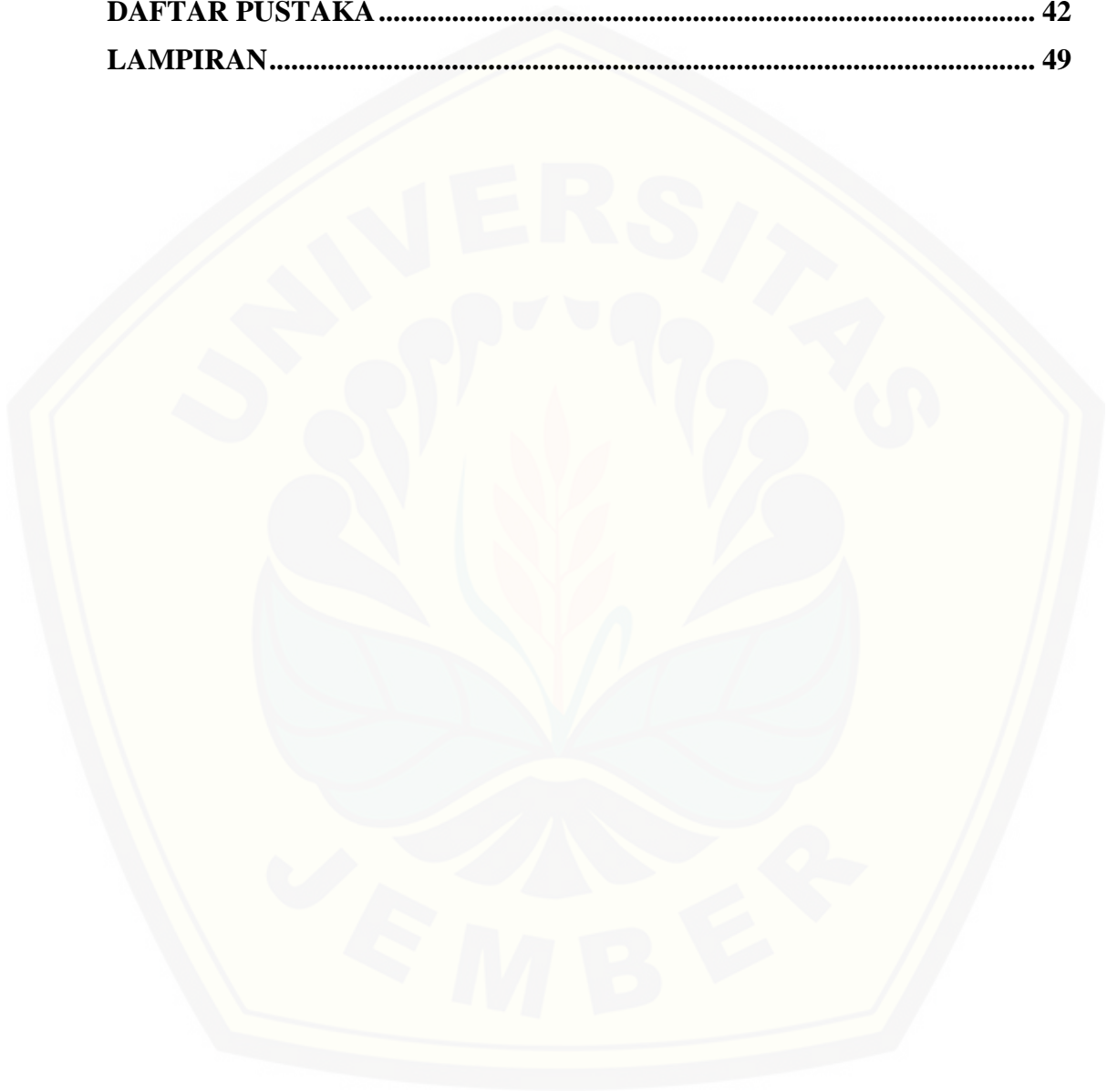
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Radikal Bebas	6
2.2 Antioksidan	7
2.3 Tinjauan Tumbuhan Paku	9
2.3.1 Deskripsi	9
2.3.2 Tinjauan <i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.).....	9
2.3.3 Tinjauan <i>Cyclosorus terminans</i> (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing	12
2.3.4 Tinjauan <i>Adiantum philippense</i> Linn	13
2.3.5 Tinjauan <i>Adiantum tenerum</i> SW	15
2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi.....	17
2.5 Tinjauan Skrining Fitokimia	18
2.6 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	21

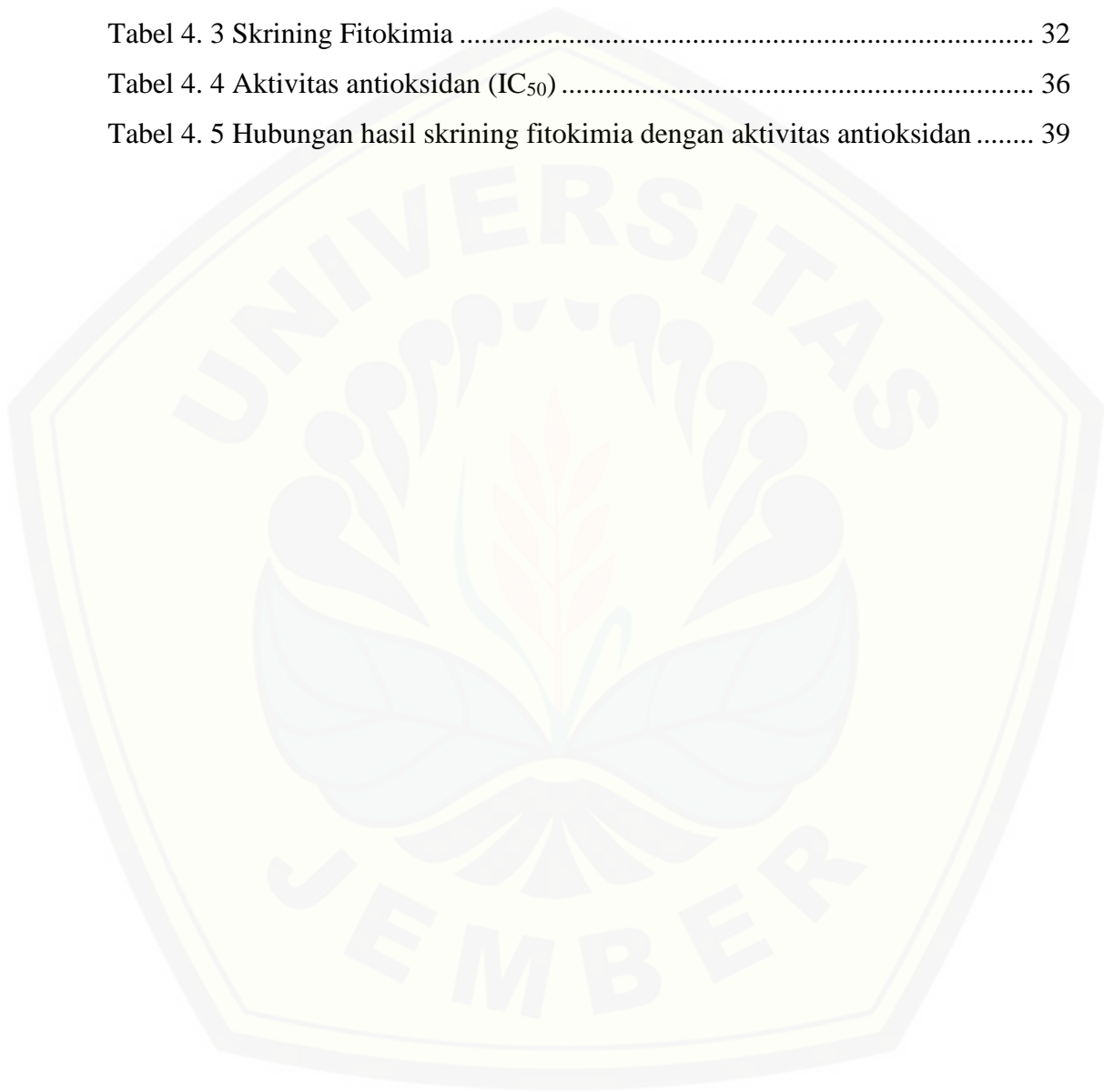
3.1	Jenis Penelitian	21
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3	Variabel Penelitian	21
3.3.1	Variabel Bebas	21
3.3.2	Variabel Terikat	21
3.3.3	Variabel Terkendali.....	21
3.4	Definisi Operasional.....	21
3.5	Alat dan Bahan	22
3.6	Rancangan Penelitian	23
3.6.1	Alur Penelitian	23
3.6.2	Rancangan Percobaan	24
3.7	Determinasi Tumbuhan Paku	24
3.8	Pembuatan Simplisia dan Serbuk Tumbuhan Paku.....	24
3.9	Pembuatan Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku	25
3.10	Skrining Fitokimia.....	25
3.11	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	26
3.11.1	Pembuatan Larutan DPPH	26
3.11.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	26
3.11.3	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak	26
3.11.4	Pembuatan Larutan Uji Kuersetin.....	27
3.11.5	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak dan Kuersetin.....	27
3.11.6	Perhitungan Nilai IC ₅₀	27
3.11.7	Analisis Data	28
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Hasil Determinasi	29
4.2	Pembuatan Simplisia	29
4.3	Ekstraksi	31
4.4	Skrining Fitokimia.....	32
4.5	Penetapan Aktivitas Antioksidan	33
4.5.1	Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	34
4.5.2	Penetapan Aktivitas Antioksidan	35

4.6	Analisis Data	38
BAB 5. PENUTUP.....		41
5.2	Kesimpulan.....	41
5.3	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		49



DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Berat serbuk simplisia dan berat ekstrak.....	30
Tabel 4. 2 Persen rendemen hasil ekstraksi sampel	31
Tabel 4. 3 Skrining Fitokimia	32
Tabel 4. 4 Aktivitas antioksidan (IC ₅₀)	36
Tabel 4. 5 Hubungan hasil skrining fitokimia dengan aktivitas antioksidan	39



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 <i>Neprolepis biserrata</i>	10
Gambar 2. 2 <i>Cyclosorus terminans</i> (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing.....	12
Gambar 2. 3 <i>Adiantum philippense</i> L	14
Gambar 2. 4 <i>Adiantum tenerum</i> SW	16
Gambar 2. 5 Reaksi DPPH dengan Antioksidan	20
Gambar 4. 1 Spektrum UV-Vis larutan DPPH 0,1 mM.....	34
Gambar 4. 2 Struktur kimia DPPH.....	35

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembentukan radikal bebas yang ada di dalam tubuh merupakan proses yang terus menerus dan tidak dapat dihindari oleh tubuh manusia (Qazi dan Molvi, 2018). Adanya pola hidup yang tidak sehat dan perubahan lingkungan yang buruk seperti polusi udara dapat menyebabkan tubuh terpapar radikal bebas. Kurangnya pengetahuan tentang sumber radikal bebas dan bahayanya bagi tubuh sehingga masyarakat tidak menyadari apabila terpapar senyawa radikal bebas (Fakriah dkk., 2019).

Radikal bebas secara internal dihasilkan dalam sistem tubuh manusia, sedangkan melalui sumber eksternal radikal bebas terbentuk dari adanya polutan udara, parfum, obat-obatan, pestisida, elektromagnetik, rontgen, radiasi matahari, gas radon dan makanan yang mengandung bahan kimia pertanian (Mohammed dkk., 2015). Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif karena molekul pada orbit terluarnya mempunyai elektron yang tidak berpasangan (Bengal, 2010). Molekul cenderung menarik elektron molekul lain demi mencapai stabilitasnya untuk mendapatkan pasangan elektronnya. Sisa molekul lain tersebut akan memiliki elektron yang tidak berpasangan dan menjadi radikal bebas. Apabila reaksi ini terjadi terus menerus dalam tubuh maka dapat memicu penyebaran reaksi berantai radikal bebas (Maxwell dan Lip, 2003).

Radikal bebas dalam jumlah normal dapat berfungsi untuk membunuh virus dan bakteri (Droge, 2002). Produksi radikal bebas yang berlebih dan dengan adanya energi yang besar dapat mengganggu sistem biologis dengan merusak berbagai molekul penyusunnya seperti protein, DNA, lipid dan karbohidrat (Maxwell dan Lip, 2003). Adanya radikal bebas yang tinggi dalam tubuh dapat memicu berbagai penyakit kronis dan degeneratif serta proses penuaan dan beberapa patologi akut (trauma, stroke) (Pham Huy dkk., 2008). Beberapa penyakit yang dipicu oleh radikal bebas pada manusia seperti penyakit Alzheimer, penyakit ginjal, kanker, fibrosis, kelainan reperfusi jantung, dan lain-lain (Bengal, 2010). Adanya akumulasi radikal bebas dapat memicu perkembangan penyakit kanker, sehingga senyawa

antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya akumulasi radikal bebas (Bengal, 2010). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya proses oksidasi (Atta dkk., 2017). Senyawa antioksidan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Romera-Castillo dan Jaffé, 2015). Tubuh memiliki mekanisme untuk melawan serangan dari radikal bebas dengan adanya pembentukan antioksidan endogen. Jika adanya jumlah antioksidan endogen yang tidak mencukupi maka dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen (Pham Huy dkk., 2008). Peningkatan asupan antioksidan eksogen akan memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif melalui penghambatan reaksi berantai radikal bebas (Xu dkk., 2017).

Antioksidan eksogen terutama berasal dari makanan dan tanaman obat, seperti buah-buahan, sayuran, sereal, jamur, minuman, bunga, rempah-rempah dan jamu tradisional (Xu dkk., 2017). Berdasarkan sumbernya, antioksidan eksogen terbagi menjadi antioksidan dari bahan alam atau alami dan antioksidan sintetis (Xu dkk., 2017). Bahan alam lebih disarankan penggunaannya sebagai sumber antioksidan karena memiliki efek samping yang rendah dan tingkat keamanan yang lebih tinggi daripada antioksidan sintetis (Amarowicz dkk., 2000).

Penggunaan bahan alam yang umum digunakan sebagai antioksidan adalah tumbuhan. Dua pertiga dari spesies tumbuhan di dunia memiliki potensi antioksidan yang besar sehingga tumbuhan telah menjadi dasar obat-obatan tradisional di seluruh dunia (Krishnaiah dkk., 2011). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami adalah tanaman Paku (*Pteridophyta*). Tanaman paku merupakan tanaman vaskular yang tersebar luas di seluruh Indonesia. Ada sekitar 12.000 spesies paku di seluruh dunia dan 1.300 diantaranya ditemukan di Indonesia (Wang dkk., 2017).

Tumbuhan paku telah digunakan sebagai sumber makanan dan obat tradisional diberbagai daerah seperti masyarakat di Bali yang menggunakan bagian daun dari paku lindung (*Pneumatopteris callosa* (Blume)) sebagai sayuran sup dan dekokta dari daunnya digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk menurunkan demam dan hipertensi (Sujarwo dkk., 2014). Masyarakat Dayak di Provinsi

Kalimantan Barat, Indonesia menggunakan paku pedang (*Nephrolepis biserrata*) sebagai pengobatan sakit kepala (Diba dkk., 2013). Masyarakat Chittagong, Bangladesh menggunakan rebusan dari daun *Adiantum philippense* L yang dicampur dengan air gula untuk menurunkan demam pada anak-anak (Ali dkk., 2013). Tanaman paku *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) oleh masyarakat Thailand Utara digunakan sebagai sumber makanan dan untuk mengobati infeksi bakteri (Kaewsuwan dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, senyawa fitokimia yang terkandung dalam tumbuhan paku dengan jenis spesies *Nephrolepis biserrata* mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, antarkuinon, saponin, triterpenoid, steroid dan fitosterol (Shah dkk., 2014). *Adiantum philippense* L mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin (Amoroso dkk., 2014). Penelitian uji aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Bahadori dkk (2015) dengan menggunakan spesies paku *Polypodium interjectum*, *Polystichum woronowii*, *Polystichum aculeatum*, dan *Athyrium filix-femina*, memiliki nilai IC_{50} berturut-turut $31,00 \pm 0,84$ ppm, $15,26 \pm 0,49$ ppm, $41,39 \pm 2,56$ ppm, dan $12,12 \pm 0,57$ ppm. Penelitian uji aktivitas antioksidan lainnya dilakukan oleh Fatoni (2019) dengan menggunakan spesies paku *Polypodium barometz*, *Pteris vittata*, *Diplazium esculentum*, dan *Nephrolepis cordifolia* yang memiliki nilai IC_{50} berturut-turut $20,58 \pm 0,36$ ppm, $31,42 \pm 0,39$ ppm, $51,47 \pm 0,84$ ppm, dan $50,77 \pm 0,38$ ppm. Berdasarkan hal diatas, tumbuhan paku dan kandungan metabolit sekunder berpotensi sebagai agen antioksidan.

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penetapan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari tumbuhan paku yang diambil dari kawasan jalan menuju Air Terjun Tretes Kembar Jarak Wonosalam Kabupaten Jombang. Adapun paku yang diteliti antara lain *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi antioksidan dan kandungan fitokimia pada tumbuhan paku (*Pteridophyta*) di kawasan tersebut. Penetapan aktivitas antioksidan ini menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-prikilhidrazil) karena

telah umum digunakan dan memiliki beberapa keuntungan yaitu; sederhana, cepat, akurat dan sampel yang dibutuhkan sedikit (Dontha, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini yang dapat dirumuskan adalah:

1. Apakah terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat, dan terpenoid dalam ekstrak metanol daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.
2. Berapa nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada ekstrak metanol dari daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.
3. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dari daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.

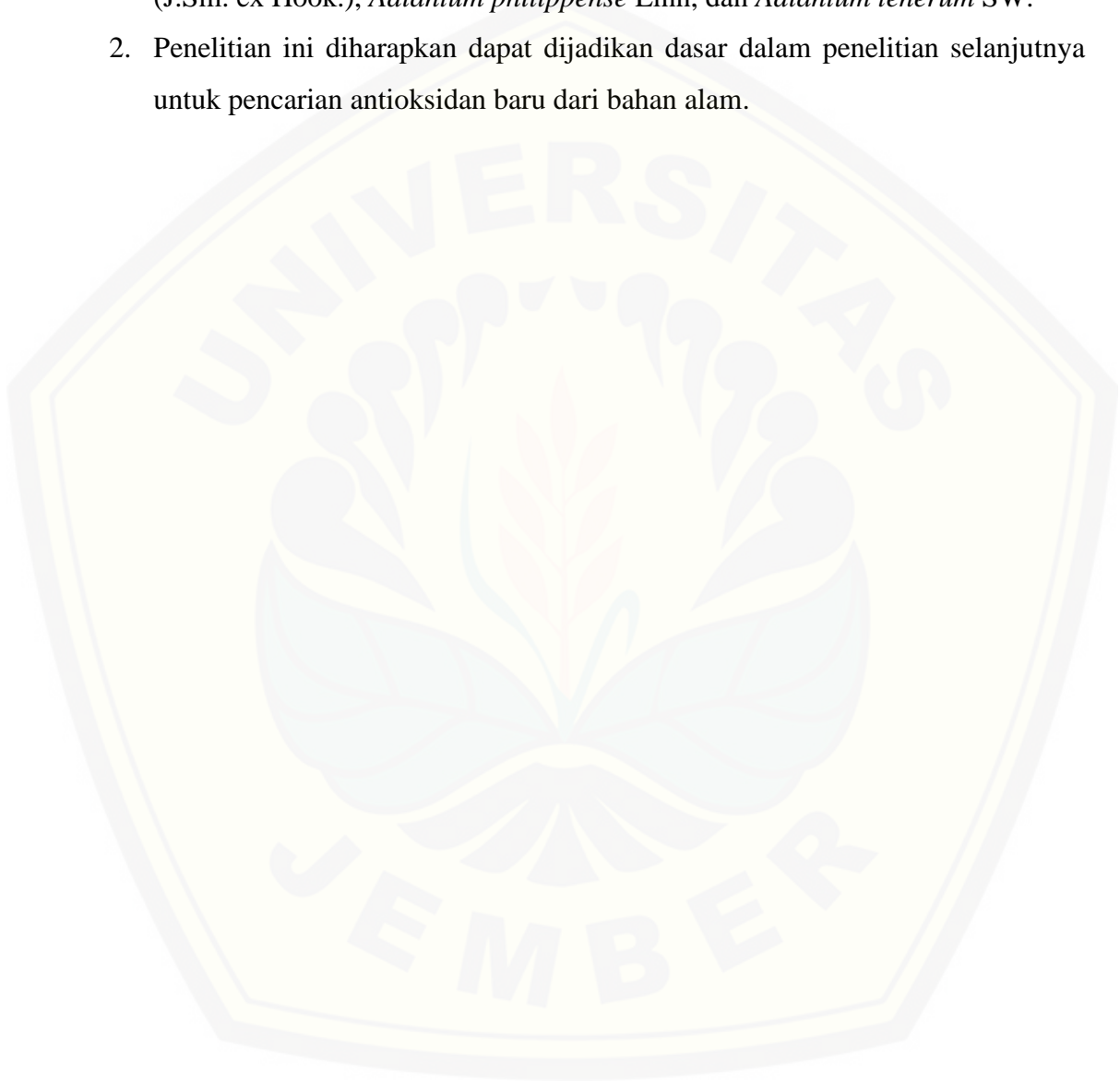
1.3 Tujuan

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui adanya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat, dan terpenoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.
2. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan IC_{50} pada ekstrak metanol daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.
3. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dari daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi serta sumbangan pengetahuan bagi kemajuan di bidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan daun *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.
2. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antioksidan baru dari bahan alam.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul dengan elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat tidak stabil dan bereaksi cepat dengan senyawa lain, serta berusaha menangkap elektron yang dibutuhkan untuk mendapat stabilitasnya. Dengan demikian, molekul yang diserang akan memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat memicu reaksi berantai radikal bebas (Bengal, 2010). Saat sel menggunakan oksigen untuk menghasilkan energi, radikal bebas terbentuk sebagai akibat dari produksi ATP (*adenosine triphosphate*) oleh mitokondria. Turunan radikal dari oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) yang terdapat dalam sistem biologis adalah radikal bebas superoksida ($O_2\cdot^-$), hydrogen peroksida (H_2O_2), hidroksil (OH), oksigen singlet ($1O_2$), peroksida lemak (LOOH), radikalbebas “*like alkoxy*” (LO), radikal bebas peroksil (LOO), dan radikal *thiyl* (RS) oksigen reaktif (ROS), serta spesies nitrogen reaktif (RNS) yang dihasilkan dari proses redoks seluler (Pham Huy dkk., 2008).

Pada tingkat rendah atau sedang, ROS memberikan manfaat pada respon seluler dan fungsi kekebalan. Pada konsentrasi tinggi dapat menghasilkan stres oksidatif, proses merusak yang dapat merusak semua struktur sel (Pham Huy dkk., 2008). Radikal bebas secara internal dihasilkan dalam sistem tubuh manusia, seperti adanya oksigen yang sangat reaktif dan oksidasi dari lemak, protein, dan unsur lain dalam tubuh dapat menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas melalui sumber eksternal terbentuk dari radiasi matahari, polutan air, pelarut kimia, pestisida, polutan udara, parfum, rontgen, dan gas radon semuanya merupakan pembangkit kuat radikal bebas (Bengal, 2010).

Tubuh manusia memiliki beberapa mekanisme untuk melawan stres oksidatif dengan memproduksi antioksidan yang diproduksi secara alami dalam tubuh atau secara eksternal melalui makanan atau suplemen. Radikal bebas yang muncul secara normal selama metabolisme dapat menetralkan virus dan bakteri. Tubuh dapat menangani adanya radikal bebas, tetapi jika produksi radikal bebas

menjadi berlebihan atau jika antioksidan tidak tersedia, maka kerusakan dapat terjadi (Pham Huy dkk., 2008).

Radikal bebas menyerang tiga komponen seluler utama yaitu lipid, protein dan DNA. Peroksidasi lipid dalam membran sel dapat merusak membran sel dengan mengganggu fluiditas dan permeabilitas. Kerusakan pada protein yang disebabkan oleh radikal bebas dapat mengganggu aktivitas enzim dan fungsi protein struktural. Kerusakan pada DNA dapat menyebabkan kematian sel. Membran sel atau membran organel yang dirusak oleh radikal bebas dapat membahayakan kesehatan seluruh sel (Bengal, 2010). Radikal bebas yang berlebih dalam tubuh menyebabkan banyak penyakit pada manusia seperti kanker, penyakit Alzheimer, kelainan reperfusion jantung, penyakit ginjal, dan fibrosis (Bengal, 2010). Selain itu radikal bebas juga dapat memicu penyakit arthritis, aterosklerosis, dan diabetes (Ali dkk., 2013).

2.2 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda atau menghambat proses oksidasi akibat dari reaksi radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Antolovich dkk., 2002). Antioksidan tidak menjadi radikal bebas dengan menyumbangkan elektronnya karena antioksidan stabil dalam bentuk apapun. Antioksidan yang ideal harus memiliki sifat tertentu, yaitu; harus efektif dalam konsentrasi rendah, cukup larut dalam produk yang dapat teroksidasi, tidak beracun dan tidak menyebabkan iritasi pada konsentrasi efektif bahkan setelah penyimpanan lama tidak berbau, tidak berasa dan tidak memberi warna pada produk. Antioksidan harus stabil dan efektif pada berbagai pH, bersifat netral dan tidak boleh bereaksi secara kimiawi dengan konstituen lain yang ada (Bengal, 2010).

Sumber antioksidan dapat diperoleh dari dua sumber yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh seperti enzim superoksida dismutase, katalase, *glutathione* peroksidase, atau senyawa non enzimatik, semacamnya sebagai asam urat, bilirubin, albumin, matalotionin (Pisoschi dan

Negulescu, 2012). Antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh yang berdasarkan sumbernya terbagi menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis (Pisoschi dan Negulescu, 2012).

Antioksidan alami didapat dari bahan tanaman terutama polifenol (asam fenolik, flavonoid, antosianin, lignan dan stilbena), karotenoid (xanthofil dan karoten) dan vitamin (vitamin E dan C). Umumnya antioksidan alami ini terutama polifenol dan karoten, menunjukkan berbagai efek biologis, seperti antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antipenuaan dan antikanker (Xu dkk., 2017). Senyawa golongan fenol dan flavonoid merupakan kelompok senyawa yang berperan sebagai antioksidan alami (Adesegun dkk., 2009). Senyawa fenol dan flavonoid memiliki kontribusi linier terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenol dan flavonoidnya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Ghasemzadeh dan Ghasemzadeh, 2011). Senyawa lain yang pernah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan adalah golongan terpenoid (Al-Jaber dkk., 2011) dan golongan alkaloid (Antony dkk., 2011). Beberapa senyawa antioksidan sintetis yang banyak beredar di masyarakat antara lain Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), Propil Galat (PG), dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Pada penggunaan jangka lama antioksidan sintetis dapat menimbulkan efek samping hingga meningkatkan resiko penyakit karsinogenesis. Mempertimbangkan efek kesehatan, bahan alam sebagai sumber antioksidan lebih disarankan karena memiliki efek samping yang rendah (Amarowicz dkk., 2000).

Selain itu, vitamin C dan vitamin E dianggap dapat melindungi tubuh dari efek merusak radikal bebas. Vitamin E merupakan antioksidan yang larut dalam lemak paling melimpah dalam tubuh dan merupakan pelindung utama melawan oksidasi. Vitamin C merupakan antioksidan larut air yang melimpah dalam tubuh dan bertindak menghambat pembentukan radikal bebas yang disebabkan oleh polusi dan asap rokok (Bengal, 2010).

2.3 Tinjauan Tumbuhan Paku

2.3.1 Deskripsi

Tumbuhan paku merupakan tumbuhan vaskular yang tidak berbiji dan tidak berbunga. Paku mempunyai batang, pelepah, pinnae dan akar seperti tumbuhan vaskular lainnya. Tumbuhan paku sering ditemukan di hutan yang lembab dan teduh, di pinggiran sungai dan air terjun, celah-celah permukaan batu, dan juga tumbuh di rawa bakau, dan di bebatuan pantai. Paku memiliki ciri yang mirip dengan alga dan lumut tetapi yang membedakannya adalah tumbuhan ini dilengkapi dengan adanya xylem dan floem sehingga dapat memproduksi air dan bahan makanan (Yusuf, 2010). Tumbuhan paku memiliki banyak kegunaan, pada umumnya tumbuhan paku dimanfaatkan sebagai tanaman hias, sebagai sumber makanan dan beberapa diantaranya dapat digunakan sebagai pengobatan (Mannan dkk., 2008)

Ciri khas dari tumbuhan paku adalah susunan daun muda (pelepah) dipucuk. Pelepah muda pada tumbuhan paku berbentuk melingkar yang biasa dikenal sebagai vernasi melingkar. Tumbuhan paku memiliki akar, batang, rimpang, dan daun (organ vegetatif) dan memiliki spora, arkegonium, anteridium dan sporangium (organ generatif). Rimpang dari tanaman paku bervariasi dari pendek, tebal hingga panjang, dan menjalar. Tumbuhan paku berkembang biak melalui spora yang dibawa dalam sporangia dan sekumpulan sporangia disebut sebagai sorus (Yusuf, 2010). Divisi pteridophyta dikelompokkan menjadi empat kelas antara lain licopodinae (paku rambat), fillicinae (paku sejati), equisetinae (paku ekor kuda), dan psilophytinae (paku purba) (Tjitrosoepomo, 2009).

2.3.2 Tinjauan *Nephrolepis biserrata*(Sw.)

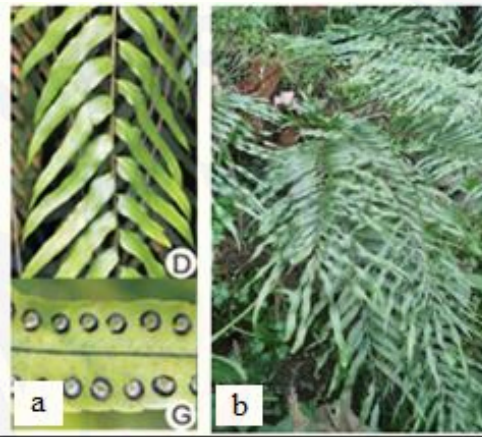
a. Klasifikasi Tumbuhan

Berdasarkan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2020), dan *Integrated Taxonomic Information System* (2019), klasifikasi *Nephrolepis biserrata* adalah sebagaiberikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Divisi : Pteridophyta
 Kelas : Filicopsida
 Ordo : Polypodiales
 Famili : Dryopteridaceae
 Genus : *Nephrolepis* Schott
 Spesies : *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott



Gambar 2. 1. a. *Nephrolepis biserrata* (Kao dkk., 2013)
 b. *Nephrolepis biserrata* (Sumber: dokumentasi pribadi)

b. Deskripsi dan Morfologi

Nephrolepis biserrata adalah spesies tumbuhan pakis yang tumbuh liar dan memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi. Tanaman yang memiliki kemampuan beradaptasi cenderung hidup di tempat-tempat yang tanaman lain tidak bisa tumbuh atau hanya bisa tumbuh kurang baik. *Nephrolepis biserrata* memiliki sifat yang memungkinkan untuk tumbuh di daerah yang teduh dan basah seperti tepi sungai dan rawa-rawa, sehingga berpotensi digunakan sebagai tanaman penutup di daerah yang teduh. Untuk perkebunan kelapa sawit, *Nephrolepis biserrata* sangat berguna karena dapat menjaga kelembaban di sekitar perkebunan (Ariyanti dkk., 2015).

Nephrolepis biserrata (Swartz) Schott memiliki rimpang pendek, bersisik, tegak, daun majemuk *unipinnate* dengan tepi daun bergerigi. *Nephrolepis biserrata* memiliki spora yang terletak dipinggir daun dengan letak spora yang tidak merata. Permukaan adaksial, sel epidermis sebagian besar tidak teratur, dinding anticlinal

tebal, lurus dan bergelombang hingga berliku-liku, panjang 5,88-12,04 μm dan lebar 2,50-5,60 μm , jumlah sel epidermis per lapang adalah 64-68. Permukaan abaksial *Nephrolepis biserrata*, sel epidermis tidak beraturan, tebal dan dinding antiklinal bergelombang 47-54 per lapang, panjang 5,88-12,04 μm dan lebar 2,52-5,60 μm (Oloyede dkk., 2011).

c. Kandungan Fitokimia

Nephrolepis biserrata mengandung alkaloid, antarkuinon, flavonoid, saponin, tannin, triterpenoid, steroid dan fitosterol. Penelitian yang dilakukan oleh Shah dkk., (2014) menunjukkan kandungan fenolik tertinggi ditemukan pada ekstrak fraksi butanol ($169,33 \pm 4,04$ mg GAE/g) dan ekstrak metanol ($127,28 \pm 1,57$ mg GAE/g). Kandungan flavonoid tertinggi ditemukan dalam fraksi butanol ($53,19 \pm 2,21$ mg QE/g) dan ekstrak metanol ($28,72 \pm 1,82$ mg QE/g) (Shah dkk., 2014).

d. Penelitian tentang *Nephrolepis biserrata*(Sw.) Schott

Masyarakat di Sarawak Malaysia menggunakan tanaman paku larat atau paku pedang (*Nephrolepis biserrata* (Sw.)) untuk perawatan gangguan kulit. Penduduk setempat di Brunei menggunakan *Nephrolepis biserrata* untuk mengobati penyakit kuning, infeksi jamur seperti bisul, abses, nyeri dan lecet (Shah dkk., 2014). Spesies ini memiliki rimpang yang dapat dimakan dan tunas muda yang secara tradisional digunakan untuk mengobati masalah kulit seperti lecet dan luka (Manan dkk., 2015).

Shah dkk (2014) melaporkan bahwa ekstrak metanol *Nephrolepis biserrata* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 250 $\mu\text{g/mL}$, diikuti oleh fraksi butanol, etil asetat, dan kloroform memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 220 $\mu\text{g/mL}$, 260 $\mu\text{g/mL}$, dan 270 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu pengamatan histopatologi yang dilakukan oleh Shah dkk (2015) menunjukkan bahwa *Nephrolepis biserrata* dapat menurunkan degenerasi lemak dan nekrosis pada tikus yang diberikan CCl_4 . Sehingga dalam penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa *Nephrolepis biserrata*

memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan signifikan dan memiliki efek perlindungan terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi CCl₄ pada tikus.

2.3.3 Tinjauan *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing

a. Klasifikasi Tumbuhan

Berdasarkan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2020), dan *Integrated Taxonomic Information System* (2019), klasifikasi *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Pteridophyta
Kelas	: Filicopsida
Ordo	: Polypodiales
Famili	: Thelypteridaceae
Genus	: <i>Cyclosorus</i>
Spesies	: <i>Cyclosorus terminans</i> (J.Sm. ex Hook.)



Gambar 2. 2 *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing (Sumber: dokumentasi pribadi)

b. Deskripsi dan Morfologi

Cyclosorus terminans (J.Sm. ex Hook.) merupakan tumbuhan paku yang hidup di tanah dan dapat ditemukan di tempat yang lembab. Tanaman ini memiliki tinggi sekitar 40-100 cm. *Cyclosorus terminans* memiliki rimpang dan tangkai

berwarna coklat dan bersisik, memiliki tulang daun menyirip dengan sorus membulat di tepi-tepi daun (Agatha dkk., 2019).

c. Kandungan Fitokimia

Kandungan fitokimia pada spesies *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) belum diketahui karena penelitian tentang tumbuhan ini tergolong sedikit. Penelitian oleh Kaewsuwan dkk (2015) didapatkan tiga isolat turunan kumarin, yaitu interruptin A, B, dan C dari *Cyclosorus terminans*. *Cyclosorus terminans* memiliki kekerabatan genus dengan *Cyclosorus parasiticus*. Jayamohan dkk (2013) melaporkan bahwa tanaman *Cyclosorus parasiticus* memiliki kandungan fitokimia flavonoid, saponin, alkaloid, tannin dan terpenoid. Selain itu *Cyclosorus parasiticus* dapat digunakan sebagai antifungi dan antibakteri.

d. Penelitian tentang *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing

Kaewsuwan dkk (2015) melaporkan bahwa masyarakat di Thailand utara telah lama memanfaatkan tanaman *Cyclosorus terminans* sebagai sumber makanan. Tanaman *Cyclosorus terminans* juga dapat digunakan sebagai pengobatan untuk mencegah penyakit kanker dan infeksi bakteri. Selain itu, *Cyclosorus terminans* juga dapat digunakan untuk menunda penuaan yang disebabkan oleh radikal bebas dan kerusakan oksidatif. Penelitian oleh Kaewsuwan dkk (2015) didapatkan tiga isolat turunan kumarin, yaitu interruptin A, B, dan C dari *Cyclosorus terminans*. Interruptin A menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap empat bakteri gram positif termasuk *methicillin-sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA), *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* dan *Bacillus subtilis* dengan nilai MIC 2 μ g/mL (Kaewsuwan dkk., 2015).

2.3.4 Tinjauan *Adiantum philippense* Linn

a. Klasifikasi Tumbuhan

Berdasarkan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2020) dan *Integrated Taxonomic Information System* (2019), klasifikasi *Adiantum philippense* Linn adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Pteridophyta
Kelas : Filicopsida
Ordo : Polypodiales
Famili : Adiantaceae
Genus : *Adiantum* L.
Spesies : *Adiantum philippense* L.



Gambar 2. 3 *Adiantum philippense* L (Sumber: dokumentasi pribadi)

b. Deskripsi dan Morfologi

Adiantum philippense L merupakan tumbuhan paku yang hidup di tanah yang berakar serabut. Tanaman ini dapat dijumpai di tempat yang lembab. *Adiantum philippense* L termasuk pakis yang berukuran kecil, batang berbentuk bulat dan memanjang, memiliki tangkai yang berwarna coklat tua dengan 10-15 cm, daun bergerigi dan memiliki spora yang terletak dibawah permukaan daun (Ali dkk., 2013).

c. Kandungan Fitokimia

Skrining fitokimia dari ekstrak tumbuhan paku *Adiantum philippense* L mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tannin (Amoroso dkk., 2014).

Tanaman *Adiantum philippense* L mengandung karbohidrat, glikosida, alkaloid, flavonoid, dan saponin (Ali dkk., 2013). Penelitian yang telah dilakukan oleh Ali dkk (2013) menunjukkan bahwa tanaman *Adiantum philippense* memiliki kandungan fenol total $148,26 \pm 0,24$ mg GAE/g dan flavonoid total $163,06 \pm 0,56$ mg QE/g.

d. Penelitian tentang *Adiantum philippense* L.

Ali dkk (2013) melaporkan bahwa tanaman *Adiantum philippense* L dapat digunakan untuk pengobatan penyakit maag, disentri, dan epilepsi. Selain itu tanaman *Adiantum philippense* L juga merupakan sumber antioksidan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Adiantum philippense* L memiliki efek antioksidan dengan nilai IC_{50} $140,00 \pm 0,86$ μ g/mL.

2.3.5 Tinjauan *Adiantum tenerum* SW

a. Klasifikasi Tumbuhan

Berdasarkan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2020) dan *Integrated Taxonomic Information System* (2019), klasifikasi *Adiantum tenerum* SW adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Pteridophyta
Kelas	: Filicopsida
Ordo	: Polypodiales
Famili	: Adiantaceae
Genus	: <i>Adiantum</i> L.
Spesies	: <i>Adiantum tenerum</i> SW



Gambar 2. 4 a. *Adiantum tenerum* SW (Patil, 2014)

b. *Adiantum tenerum* SW (Sumber: dokumentasi pribadi)

b. Deskripsi dan Morfologi

Adiantum tenerum adalah spesies tumbuhan paku yang tumbuh di tempat lembab pada tanah dan pada tembok yang berlumut. Spesies paku ini biasa digunakan sebagai tanaman hias. *Adiantum tenerum* memiliki akar serabut yang pendek dan pada bagian tengah berwarna coklat kemerahan. Batang panjang berbentuk bulat dan berwarna coklat dengan permukaan yang halus. Awal pertumbuhan daunnya berwarna hijau pucat, berubah menjadi hijau seiring bertambahnya usia. Daunnya berjarak dekat, berbentuk sekop, dan bertulang daun menyirip. Spora kebanyakan berukuran 45-58 μm (Patil, 2014).

c. Kandungan Fitokimia

Kandungan fitokimia pada spesies *Adiantum tenerum* belum diketahui karena penelitian tentang tumbuhan ini tergolong sedikit. *Adiantum tenerum* memiliki kekerabatan genus dengan *Adiantum capillus-veneris*. Al-Snafi (2015) melaporkan bahwa tanaman *Adiantum capillus-veneris* memiliki kandungan karbohidrat, flavonoid, triterpenoid, fenilpropanoid, dan karotenoid.

d. Penelitian tentang *Adiantum tenerum* SW

Penelitian tentang kandungan antioksidan *Adiantum tenerum* belum diketahui. Tanaman *Adiantum tenerum* dan *Adiantum capillus-veneris* memiliki kekerabatan genus yang sama. Tanaman *Adiantum capillus-veneris* dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, analgesik, hipoglikemik, antiproliferatif, neuroprotektif, dan sebagai antidermatitis (Al-Snafi, 2015). Ekstrak metanol *Adiantum capillus-veneris* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 2,99 $\mu\text{g/mL}$, diikuti oleh ekstrak kloroform, etil asetat, dan aseton yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut 6,06 $\mu\text{g/mL}$, 7,79 $\mu\text{g/mL}$, dan 21,51 $\mu\text{g/mL}$ (Aali dkk., 2018).

2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan kandungan senyawa kimia pada simplisia yang dapat larut hingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair (Ditjen POM.,2000). Pemilihan pelarut sangat penting untuk ekstraksi. Selektivitas, kelarutan, biaya dan keamanan haruslah dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut. Suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama berdasarkan prinsip *like dissolve like*. Pelarut universal yang sering digunakan dalam ekstraksi adalah etanol dan metanol. Metanol dan etanol memiliki keunggulan dapat menarik sebagian besar senyawa aktif (Zhang dkk., 2018).

Metode ekstraksi secara umum adalah maserasi, infusa, dekok, digesti, perkolasi, sokhletasi, dan ultrasonikasi. Pada penelitian ini dipilih metode maserasi. Dalam metode maserasi, serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan dalam suhu kamar untuk jangka waktu minimal tiga hari dengan pengadukan sesering mungkin. Campuran kemudian difiltrasi untuk didapatkan filtratnya (Handa dkk., 2008). Keuntungan dari metode ekstraksi secara maserasi adalah prinsip kerja yang sederhana dan mudah. Kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan pelarut dalam jumlah yang besar dan waktu ekstraksi yang cukup lama (Zhang dkk., 2018).

2.5 Tinjauan Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa alami yang terkandung dalam ekstrak tanaman (Bandiola, 2018). Metode skrining fitokimia dapat dilakukan dengan uji tabung atau kromatografi lapis tipis (KLT) (Pyka, 2014). Metode skrining fitokimia yang umum digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan atau pemurnian campuran dari senyawa kimia atau senyawa biologis. Kelebihan analisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) adalah hemat biaya, peralatan yang dibutuhkan sederhana dan prinsip kerja yang mudah (Kumar dkk., 2013).

Prinsip kerja dari KLT adalah distribusi suatu senyawa antara fase diam yang diterapkan pada kaca dan fase gerak cair yang bergerak diatas fase padat. Sejumlah senyawa atau campuran diaplikasikan pada lempeng KLT (fase diam) yang kemudian dikembangkan dengan adanya eluen atau pelarut (fase gerak). Pemisahan senyawa terjadi berdasarkan tingkat kelarutannya sesuai dengan prinsip *like dissolve like*. Semakin mirip sifat fisik senyawa dengan fase gerak atau pelarutnya, senyawa akan mudah terlarut kemudian terbawa oleh fase gerak ke atas lempeng KLT dan senyawa yang sukar larut akan tertinggal (Kumar dkk., 2013). Penggunaan KLT dapat digunakan untuk pemisahan metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, fenol, tanin, flavonoid, diterpen, karbohidrat, glikosida, protein dan asam amino (Amita Pandey dan Tripathi, 2014).

2.6 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vivo* maupun secara *in vitro*. Beberapa metode yang sering dipakai dalam proses pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro* adalah:

a. Metode ABTS (2,2'-azinobis (asam 3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonat)

Metode ABTS membutuhkan 2,2'-azinobis (asam 3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonat) sebagai sumber radikal bebas. Prinsip dari metode ABTS adalah untuk mengukur kapasitas antioksidan yang secara langsung bereaksi atau meredam kation radikal $ABTS^+$. Radikal kation diperoleh dengan mereaksikan 7 mM ABTS

dengan 2,45 mM kalium persulfat dan campurannya didiamkan pada ruang gelap selama 12-16 jam sebelum digunakan. Radikal kation menunjukkan absorpsi maksimal pada panjang gelombang 734 nm. Perubahan warna yang terjadi adalah dari hijau kebiruan menjadi tidak berwarna (Gupta, 2015).

b. Metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*)

Pada metode FRAP terjadi reduksi ion ferri menjadi ferro oleh senyawa antioksidan dengan menggunakan kompleks besi-ligan 2,4,6-tripiridin-triazin ($\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$) sebagai pereaksi. Perubahan warna yang terjadi adalah dari biru menjadi kecoklatan. Metode FRAP dapat memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang 593 nm setelah inkubasi pada 37 ° C selama 10 menit. Metode FRAP memiliki keterbatasan, terutama untuk pengukuran di bawah nilai pH non-fisiologis, yaitu pada pH 3,6. Selain itu, metode ini tidak dapat dilakukan untuk mendeteksi senyawa polifenol dan bereaksi lambat (Dontha, 2016).

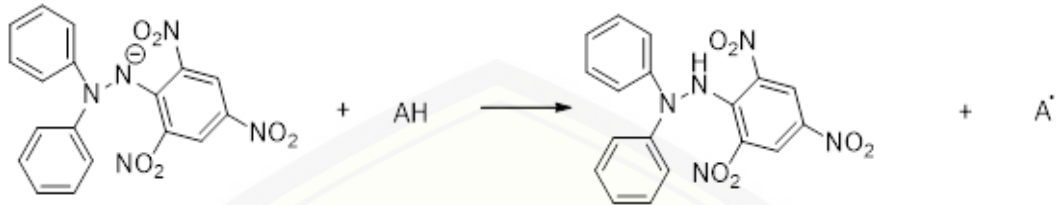
c. Metode CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*)

Pada pengujian metode ini reagen Cu(II)-neokuproin berperan sebagai pengoksidasi kromogenik. Metode ini didasarkan pada reaksi redoks antara antioksidan dan radikal bebas, dimana aktivitas antioksidan dapat diukur dengan mereduksi Cu(II) menjadi Cu(I) oleh antioksidan. Reagen ini dapat memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang 450 nm. Penggunaan metode CUPRAC ini sangat luas yaitu, untuk mengukur uji antioksidan dalam makanan, tumbuhan, serum manusia, sampel biologis, vitamin C dan E, dan lain-lain. Keunggulan dari metode CUPRAC adalah pengujian yang sederhana, stabil, berbiaya rendah, memiliki kecepatan dan sensitivitas yang tinggi (Dontha, 2016).

d. Metode DPPH

DPPH merupakan salah satu radikal bebas yang paling stabil. Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk aktivitas antioksidan secara *in vitro*. Metode ini bisa digunakan untuk sampel padat atau cair. Prinsip dari metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) didasarkan pada kemampuan penstabilan radikal DPPH yang beraksi dengan hidrogen. DPPH dapat memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm (ungu). Ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH, radikal bebas yang stabil menjadi berpasangan dengan

adanya donor hidrogen dan direduksi menjadi DPPHH dan akibatnya absorbansi menurun dari DPPH (Dontha, 2016).



Gambar 2. 5 Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Alam dkk., 2013)

Radikal DPPH menampilkan penyerapan spektrum UV-Vis yang intens. Ketika larutan DPPH dicampur dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen. Radikal bebas akan tereduksi dengan ditandai perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning terang (Dontha, 2016). Keuntungan penggunaan metode DPPH adalah pengujian yang sederhana, relatif mudah, dan juga cepat (Dontha, 2016).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penetapan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tumbuhan paku *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW. merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Juli 2020 hingga selesai.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis ekstrak metanol daun tumbuhan paku yang digunakan.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali yang digunakan dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi serbuk simplisia dan cara pengujian aktivitas antioksidan.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Sampel tumbuhan paku yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Kawasan jalan menuju Air Terjun Tretes Kembar Jarak Wonosalam Kabupaten

Jombang. Kawasan ini berada pada ketinggian 692 mdpl, dengan suhu rata-rata 18°C. Bagian sampel yang digunakan adalah bagian daun tumbuhan paku.

- b. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol 96% terdestilasi.
- c. Aktivitas antioksidan diperoleh dari hasil nilai absorbansi spektrofotometer UV-VIS yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀).
- d. IC₅₀ merupakan konsentrasi menghambat ekstrak metanol daun tumbuhan paku yang dapat meredam aktivitas radikal bebas (DPPH) sebesar 50%.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

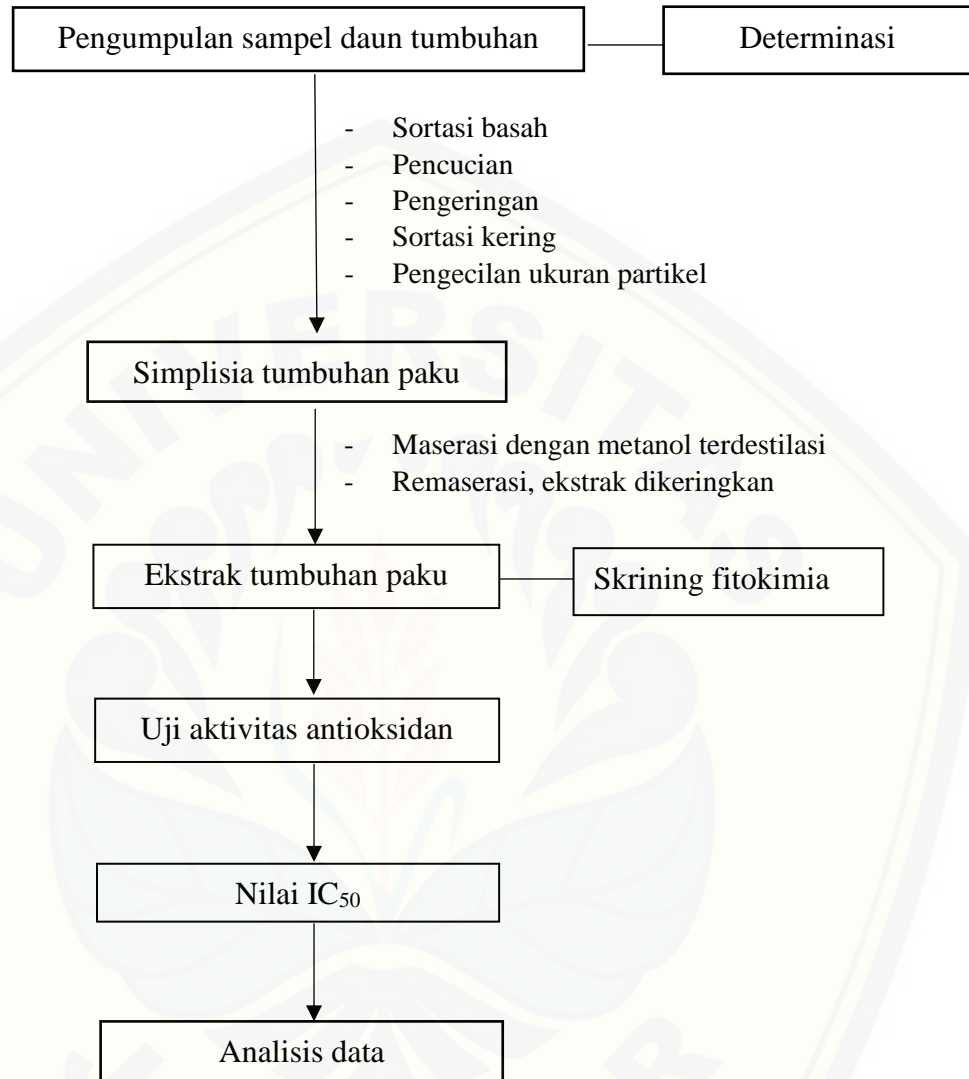
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilator, spektrofotometer UV-Vis, magnetic stirrer, ultrasonik, *rotary evaporator*, corong buchner, timbangan analitik, peralatan gelas, *chamber* KLT, gelas ekstrak, aluminium foil, vial, cawan, spatula, kuvet sekali pakai, mikropipet, ayakan, dan *blender*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tumbuhan paku yang diambil dari kawasan jalan menuju Air Terjun Tretes Kembar Jarak Wonosalam Kabupaten Jombang, metanol terdestilasi, kertas saring, aquadest, etil asetat, plat KLT silika gel F₂₅₄, n-heksana, anisaldehyd asam sulfat, FeCl₃, sitrat borat, penampak noda *Dragendorff*, kuersetin (Sigma-Aldrich), dan senyawa DPPH / 2,2-*difenil-1-pikrilhidrazil* (Sigma-Aldrich).

3.6 Rancangan Penelitian

3.6.1 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol tumbuhan paku dengan metode DPPH

3.6.2 Rancangan Percobaan

Tahap pertama pada uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun tumbuhan paku dalam penelitian ini adalah pengumpulan bahan yaitu *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW. Semua bagian dari tumbuhan paku tersebut dijadikan simplisia dan kemudian dilakukan ekstraksi pada masing-masing simplisia menggunakan metode maserasi. Setelah itu, penetapan aktivitas antioksidan dilakukan pada masing-masing ekstrak metanol tumbuhan paku. Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini. Tahap selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan uji statistik *One Way ANOVA*.

3.7 Determinasi Tumbuhan Paku

Determinasi tumbuhan paku dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi untuk memastikan bahwa tumbuhan paku yang diuji merupakan spesies *Nephrolepis biserrata* (Sw.), *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.), *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.

3.8 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Tumbuhan Paku

Pembuatan simplisia tumbuhan paku dimulai dengan pengumpulan tumbuhan paku dan sortasi basah. Sortasi basah dilakukan untuk menghilangkan benda asing dari tanaman. Tahap selanjutnya pencucian dengan air mengalir untuk membersihkan tanaman dari tanah dan kotoran. Daun kemudian dipotong kecil-kecil terlebih dahulu untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dalam ruangan dengan cara diangin-anginkan dan terhindar dari sinar matahari secara langsung. Presentase kadar air dari simplisia harus <10% agar simplisia yang dihasilkan bersih dan tidak ditumbuhi oleh jamur. Sortasi kering kemudian dilakukan untuk menghilangkan benda asing atau kotoran yang menempel pada simplisia kering (Sulasmi dkk., 2016). Tahap selanjutnya simplisia kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak sampai diperoleh serbuk halus. Serbuk kemudian ditimbang dan disimpan untuk proses ekstraksi.

3.9 Pembuatan Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku

Proses ekstraksi tumbuhan paku dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan metanol sebagai pelarutnya. Sejumlah bagian serbuk tumbuhan paku ditimbang dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut metanol terdestilasi. Perbandingan serbuk dan pelarut yang digunakan adalah 1:10. Proses selanjutnya dilakukan pengadukan selama 24 jam menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400-500 rpm. Ekstrak yang didapat disaring dengan menggunakan corong *buchner*. Remaserasi pada residu simplisia dilakukan beberapa kali agar didapat maserat yang jernih. Tahap selanjutnya maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

3.10 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak tumbuhan paku untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung di dalamnya, seperti golongan senyawa alkaloid, fenolat, flavonoid, dan terpenoid. Pengujian dilakukan dengan metode KLT menggunakan Silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam. Setiap ekstrak dilarutkan dalam metanol dan selanjutnya ditotolkan pada plat KLT F₂₅₄ dengan menggunakan konsentrasi yang seragam. Berbagai kontrol positif kemudian ditotolkan pada plat KLT, seperti kafein pada uji alkaloid, asam galat pada uji fenolat, kurkumin pada uji terpenoid, dan kuersetin pada uji flavonoid. Selanjutnya dieluasi dengan fase gerak etil asetat: asam asetat glasial : air (8 : 2 : 0,7). Plat KLT yang telah dieluasi kemudian disemprot reagen penampak noda spesifik dan diamati perubahan warna yang terjadi sebagai berikut:

a. Uji alkaloid

Penampak noda pereaksi Dragendorff disemprotkan pada plat KLT yang telah dieluasi. Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak (Bandiola, 2018).

b. Uji Fenolik

Larutan FeCl₃ disemprotkan pada plat KLT yang telah dieluasi. Jika timbul warna ungu hingga biru kehitaman menunjukkan adanya fenolik dalam ekstrak (Bandiola, 2018).

c. Uji Flavonoid

Larutan sitrat borat disemprotkan pada plat KLT yang telah dieluasi. Jika timbul warna kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak (Bandiola, 2018).

d. Uji Terpenoid

Penampak noda anisaldehyda asam sulfat disemprotkan pada plat KLT yang telah dieluasi. Adanya terpenoid atau steroid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu (Bandiola, 2018).

3.11 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

3.11.1 Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan menimbang sebanyak 2 mg serbuk DPPH dan dilarutkan dalam 50 ml metanol sehingga didapat konsentrasi 0,1 mM. Kemudian larutan disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat baru (Rahmawati, 2018).

3.11.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 400 – 600 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH yaitu dengan memipet 0,8 ml larutan DPPH 0,1 mM dan 0,2 ml metanol dicampur hingga homogen. Kemudian diinkubasi pada tempat gelap selama 30 menit dan selanjutnya dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum.

3.11.3 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan konsentrasi sebesar 2.000 ppm dengan cara sebanyak 20 mg ekstrak ditimbang dalam labu ukur 10 mL, dilarutkan dengan metanol \pm 2 mL dan diultrasonikasi sampai larut kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas. Kemudian larutan uji akhir dibuat beberapa konsentrasi untuk masing-masing ekstrak dengan cara mengencerkan larutan uji ekstrak dengan pelarut metanol dalam labu ukur 10 mL. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah konsentrasi yang dianalisis menunjukkan absorbansi sebesar 0,2-0,8.

3.11.4 Pembuatan Larutan Uji Kuersetin

Larutan uji kuersetin dibuat dengan konsentrasi sebesar 200 ppm dengan cara sebanyak 2 mg serbuk kuersetin ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji kuersetin konsentrasi 200 ppm diencerkan menjadi konsentrasi uji 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, 16 ppm, 18 ppm, dan 20 ppm.

3.11.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak dan Kuersetin

Masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan uji kuersetin dipipet 0,2 mL, kemudian ditambahkan 0,8 mL larutan DPPH 0,1 mM hingga homogen. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum.

3.11.6 Perhitungan Nilai IC₅₀

Perhitungan Nilai IC₅₀ menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs uji}}{\text{abs kontrol}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

(Chanda dan Dave, 2009)

Keterangan:

Abs kontrol = Absorbansi kontrol (larutan DPPH + metanol)

Abs Uji = Absorbansi uji (larutan DPPH + sampel)

Setelah diperoleh nilai persen peredaman dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan regresi linear dengan persamaan:

$$y = a + bx \dots \dots \dots (3.2)$$

Keterangan:

y = Persentase peredaman (%)

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

Parameter pengukuran aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai IC_{50} (Inhibitor concentration 50%), yang diartikan konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50, atau dengan persamaan:

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50-a)}{b} \dots \dots \dots (3.3)$$

3.11.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan membandingkan aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari semua ekstrak metanol tumbuhan paku. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji dengan *One Way ANOVA*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu, untuk kemudian dapat di uji dengan *One Way ANOVA*. Penggunaan *One Way ANOVA* dalam analisis data karena jumlah kelompok data lebih dari dua dan tidak berpasangan. Apabila data telah signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$ dan tingkat kepercayaan 95%.

BAB 5. PENUTUP

5.2 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang telah dibahas sebelumnya, maka diperoleh kesimpulan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Tumbuhan paku *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott, *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing, *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW terkandung golongan senyawa terpenoid, fenolat dan flavonoid.
2. Aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari yang tertinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah ekstrak *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H. Shing sebesar $45,994 \pm 0,566 \mu\text{g/mL}$, *Adiantum tenerum* SW sebesar $71,994 \pm 0,737 \mu\text{g/mL}$, *Adiantum philippense* Linn sebesar $74,407 \pm 0,584 \mu\text{g/mL}$, dan *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott sebesar $144,998 \pm 0,865 \mu\text{g/mL}$.
3. Hasil uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menunjukkan nilai IC_{50} berbeda secara signifikan pada Kuersetin dan masing-masing ekstrak tumbuhan paku seperti *Nephrolepis biserrata* (SW.) Schott, *Cyclosorus terminans* (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing, *Adiantum philippense* Linn, dan *Adiantum tenerum* SW.

5.3 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penetapan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode yang berbeda, untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan pada sampel
2. Perlu dilakukan analisis kuantitatif kadar golongan senyawa dari hasil skrining fitokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesegun, S. A., A. Fajana, C. I. Orabueze, dan H. A. B. Coker. 2009. Evaluation of antioxidant properties of *Phaulopsis fascisepala* c.b.cl. (acanthaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 6(2):227–231.
- Agatha, S. M., K. A. Safitri, A. Pulungan, Maskana, dan A. Sedayu. 2019. *Paku Pakuan (Pteridophyta) Di Taman Margasatwa Ragunan*. Jakarta: Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta 2019.
- Akhlaghi, M. dan B. Bandy. 2009. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46(3):309–317.
- Al-Jaber, N. A., A. S. Awaad, dan J. E. Moses. 2011. Review on some antioxidant plants growing in arab world. *Journal of Saudi Chemical Society*. 15(4):293–307.
- Al-Snafi, A. 2015. The chemical constituents and pharmacological effects of *Capsella bursa-pastoris*- a review. *International Journal of Pharmacology & Toxicology*. 5(2):76–81.
- Alam, M. N., N. J. Bristi, dan M. Rafiquzzaman. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21(2):143–152.
- Ali, M. S., M. R. Amin, C. M. I. Kamal, dan M. A. Hossain. 2013. In vitro antioxidant, cytotoxic, thrombolytic activities and phytochemical evaluation of methanol extract of the *A. philippense* l. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(6):464–469.
- Amarowicz, R., M. Naczka, dan F. Shahidi. 2000. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(9):957–961.
- Aminah, A., S. Maryam, M. Baits, dan U. Kalsum. 2016. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*annona muricata* l.) berdasarkan tempat tumbuh dengan metode peredaman DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1):146–150.

- Amita Pandey dan S. Tripathi. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. 2(5):115–119.
- Amoroso, V. B., D. A. Antesa, D. P. Buenavista, dan F. P. Coritico. 2014. Antimicrobial, antipyretic, and anti-inflammatory activities of selected philippine medicinal pteridophytes. *Asian Journal of Biodiversity*. 5(1)
- Antolovich, M., P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, dan K. Robards. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127(1):183–198.
- Antony, M., D. B. Menon, J. James, M. S. Lipin Dev, K. Arun, dan V. Thankamani. 2011. Phytochemical analysis and antioxidant activity of alstonia scholaris. *Pharmacognosy Journal*. 3(26):13–18.
- Ariyanti, M., S. Yahya, K. Murtalaksono, Suwanto, dan H. H. Siregar. 2015. Study of the growth of nephrolepis biserrata kuntze and its utilization as cover crop under mature oil palm plantation. *Ijsbar*. 4531:325–333.
- Atta, E. M., N. H. Mohamed, dan A. A. M. Abdelgawad. 2017. Antioxidants: an overview on the natural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*. 6(8):365.
- Bahadori, M. B., A. Sonboli, F. M. Kordi, H. Dehghan, dan H. Valizadeh. 2015. Cytotoxicity, antioxidant activity and phenolic content of eight fern species from north of iran. *Pharmaceutical Sciences*. 21(1):18–24.
- Bandiola, T. M. 2018. Extraction and qualitative phytochemical screening of medicinal plants: a brief summary. *International Journal of Pharmacy*. 8(1):137–143.
- Bengal, W. 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions : an overview. 1(3):185–192.
- Chanda, S. dan R. Dave. 2009. In vitro models for antioxidant activity evaluation.pdf. *Afr. J. Microbiol. Res*. 3(13):981–996.
- Dehpour, A. A., M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel, dan N. S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of ferula assafoetida and its essential oil composition. *Grasas y Aceites*. 60(4):405–412.
- Dewatisari, W. F., L. Rumiyantri, dan I. Rakhmawati. 2018. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun sanseviera sp. *Jurnal Penelitian Pertanian*

Terapan. 17(3):197.

- Diba, F., F. Yusro, Y. Mariani, dan K. Ohtani. 2013. Inventory and biodiversity of medicinal plants from tropical rain forest based on traditional knowledge by ethnic dayaknese communities in west kalimantan indonesia. *Kuroshio Science*. 7(1):75–80.
- Dontha, S. 2016. A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(2):14–32.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 82(1):47–95.
- Ergina dan P. I. Nuryanti S, Pursitasari. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (agave angustifolia) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(3):165–172.
- Fakriah, K. Eka, Adriana, dan Rusydi. 2019. Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan. *Jurnal Hasil-Hasil Penerapan IPTEKS Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*. 3(1):1–7.
- Fatoni, G. 2019. *Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Kabupaten Lumajang*
- Ghasemzadeh, A. dan N. Ghasemzadeh. 2011. Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plant Research*. 5(31):6697–6703.
- Gupta, D. 2015. Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(2):546–566.
- Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo, dan D. D. Rakesh. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science And High Technology.
- Indis, N. A. dan F. Kurniawan. 2016. Determination of free radical scavenging activity from aqueous extract of curcuma mangga by dpph method. *Journal of Physics: Conference Series*. 710(1)
- Jayamohan, N. S., P. K. P, dan K. Jayachandra. 2013. Surveillance of invitro antioxidant and anthelmintic activity of methanolic extract of syzygium

cumini bark (myrtaceae) * correspondence info : *Ijpp*. 3(2):56–62.

- Kaewsuwan, S., S. Yuenyongsawad, A. Plubrukarn, A. Kaewchoothong, A. Raksawong, P. Puttarak, dan C. Apirug. 2015. Bioactive interruptins a and b from cyclosorus terminans: antibacterial, anticancer, stem cell proliferation and ros scavenging activities. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 37(3):309–317.
- Kao, T.-T., W.-L. Chiou, S.-Y. Hsu, C.-M. Chen, Y.-S. Chao, dan Y.-M. Huang. 2013. Hybrid origins of nephrolepis ×hippocrepicis miyam. (nephrolepidaceae). *International Journal of Plant Reproductive Biology*. 6(1):1–14.
- Kedare, S. B. dan R. P. Singh. 2011. Genesis and development of dpph method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48(4):412–422.
- Kim, J. K., J. H. Noh, S. Lee, J. S. Choi, H. Suh, H. Y. Chung, Y. O. Song, dan W. C. Choi. 2002. The first total synthesis of 2,3,6-tribromo-4,5-dihydroxybenzyl methyl ether (tdb) and its antioxidant activity. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 23(5):661–662.
- Krishnaiah, D., R. Sarbatly, dan R. Nithyanandam. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*. 89(3):217–233.
- Kumar, S., K. Jyotirmayee, dan M. Sarangi. 2013. Thin layer chromatography: a tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 18(1):126–132.
- Lakhanpal, P. dan D. K. Rai. 2007. Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update - Ejournal*. 2(2)
- M El Aali, N., S. N Bugrein, M. F El-Fellah, M. F Elmhdwi, dan Y. F Layas. 2018. Determination of the total phenolic and flavonoid in various extracts of adiantum capillus veneris linn, as well as their radical scavenging activity. *Acta Scientific Microbiology*. 1(1):04–09.
- Manan, F. A., D. D. Mamat, A. A. Samad, Y. S. Ong, K. F. Ooh, dan T. T. Chai. 2015. Heavy metal accumulation and antioxidant properties of nephrolepis

- biserrata growing in heavy metal-contaminated soil. *Global Nest Journal*. 17(3):544–554.
- Mannan, M. M., M. Maridass, dan B. Victor. 2008. A review on the potential uses of ferns. *Ethnobotanical Leaflets*. 12(1):281–285.
- Maxwell, S. R. J. dan G. Y. H. Lip. 2003. Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 44(4):307–317.
- Mohammed, M. T., S. M. Kadhim, A. M. N. Jassimand, dan S. I. Abbas. 2015. Free radicals and human health review article free radicals and human health. *International Journal of Innovation Sciences and Research*. 4(6):218–223.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26(2):211–219.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (dpph) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26(May):211–219.
- Nisa, S. K. 2020. Identifikasi pertumbuhan tanaman paku (pteridophyta). (June)
- Oloyede, F. A., F. G. Akomolafe, dan O. T. Oladipo. 2011. Research paper comparative foliar anatomical and morpho- logical studies of nephrolepis biserrata (swartz) scott and n . undulata (swartz) j . sm . in. 31(2):1–10.
- Patil, D. M. 2014. Adiantum tenerum swartz [adiantaceae- pteridophyta } : a new. (June)
- Pham Huy, L. A., H. He, dan C. Pham Huy. 2008. Stem cell. *Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health*. 4(2):89–96.
- Phongpaichit, S., J. Nikom, N. Rungjindamai, J. Sakayaroj, N. Hutadilok-Towatana, V. Rukachaisirikul, dan K. Kirtikara. 2007. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from garcinia plants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 51(3):517–525.
- Pisoschi, A. M. dan G. P. Negulescu. 2012. Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 01(01)
- POM, D. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat cetakan pertama.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. edisi 1

- Predescu, N. C., C. Papuc, V. Nicorescu, I. Gajaila, G. V. Goran, C. D. Petcu, dan G. Stefan. 2016. The influence of solid-to-solvent ratio and extraction method on total phenolic content, flavonoid content and antioxidant properties of some ethanolic plant extracts. *Revista de Chimie*. 67(10):1922–1927.
- Prior, R., X. Wu, dan K. Schaich. 2005. Antioxidant-capacity_jf0502698(1).pdf. 4290–4302.
- Pyka, A. 2014. Detection progress of selected drugs in tlc. *BioMed Research International*. 2014
- Qazi, M. A. dan K. I. Molvi. 2018. Free radicals and their management. *American Journal of Pharmacy And Health Research*. 6(4):1–10.
- Rahmawati, erika dwi. 2018. *Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Epifit Di Kawasan Kampus Universitas Jember Dengan Metode DPPH*
- Romera-Castillo, C. dan R. Jaffé. 2015. Free radical scavenging (antioxidant activity) of natural dissolved organic matter. *Marine Chemistry*. 177:668–676.
- Shah, M. D., C. Gnanaraj, A. E. Haque, dan M. Iqbal. 2015. Antioxidative and chemopreventive effects of nephrolepis biserrata against carbon tetrachloride (ccl4)-induced oxidative stress and hepatic dysfunction in rats. *Pharmaceutical Biology*. 53(1):31–39.
- Shah, M. D., Y. S. Yong, dan M. Iqbal. 2014. Phytochemical investigation and free radical scavenging activities of essential oil, methanol extract and methanol fractions of nephrolepis biserrata. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(9):269–277.
- Sujarwo, W., N. Luguayasa, dan G. Caneva. 2014. Ethnobotanical study of edible ferns used in bali indonesia. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture, Food and Energy*. 2(2):1–4.
- Sulasmi, E. S., S. E. Indriwati, dan E. Suarsini. 2016. Preparation of various type of medicinal plants simplicia as material of jamu herbal. *International Conference on Education*. (November):Page 1014-1024.
- Susanty, S. dan F. Bachmid. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*zea mays* l.).

Jurnal Konversi. 5(2):87.

- Tjitrosoepomo. 2009. *Taksonomi Tumbuhan (Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta, Pteridophyta)*
- Wang, X., M. Wang, J. Cao, Y. Wu, J. Xiao, dan Q. Wang. 2017. Analysis of flavonoids and antioxidants in extracts of ferns from tianmu mountain in zhejiang province (china). *Industrial Crops and Products*. 97:137–145.
- Widiyarti, G., S. Supiani, dan Y. Tiara. 2018. Antioxidant activity and toxicity of puspa (*schima wallichii*) leaves extract from indonesia. *Journal of Tropical Life Science*. 8(2):151–157.
- Xu, D. P., Y. Li, X. Meng, T. Zhou, Y. Zhou, J. Zheng, J. J. Zhang, dan H. Bin Li. 2017. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(1):20–31.
- Yuli, W., N. Supriyati, A. prichatin Kusumadewi, dan T. Widayat. 2011. Pedoman umum panen dan pasca panen tanaman obat. 1–62.
- Yusuf, U. K. 2010. *Ferns of Malaysian Rain Forest*. Serdang: Universiti Putra Malaysia Press.
- Zhang, Q. W., L. G. Lin, dan W. C. Ye. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 13(1):1–26.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



LIPI

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: B-218 /IPH.06/KS.02/VI/2020

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Haris Zasi Putri Tejowati
NIM : 162210101014
Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 24 Juni 2020

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Division : Pteridophyta
Class : Filicales

No.	Family	Genus	Species
1	Nephrolepidaceae	Nephrolepis	<i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.) Schott
2	Thelypteridaceae	Cyclosorus	<i>Cyclosorus terminans</i> (J.Sm. ex Hook.) K.H.Shing
3	Adiantaceae	Adiantum	<i>Adiantum philippense</i> Linn.
4	Adiantaceae	Adiantum	<i>Adiantum tenerum</i> SW

Referensi:

- Holtum R.E. Flora of Malaya, Fern of Malaya, 1968 Volume II, Botanic Gardens, Singapore.
- Holtum, R.E 1966, Flora of Malaya, Volume II Fern of Malaya Government Printing Office, Singapore 365 p.
- W.P.de Winter dan V.B. Amoroso. 2003. (esd) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 15 (2); Cryptogams: ferns and fern allies .hal. 87

Purwodadi, 2 Juli 2020

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi
Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



R. Hrawanto, S.Si.,M.T.

Lampiran 4.2 Proses Ekstraksi



Sortasi Basah



Pencucian



Pengeringan



Sortasi Kering



Pengcilaan Ukuran



Ekstraksi Measerasi



Ekstrak Cair



Pemekatan



Ekstrak Kental

Lampiran 4.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak



Keterangan: (a) *Nephrolepis biserrata*, (b) *Cyclosorus terminans*, (c) *Adiantum philippense*, (d) *Adiantum tenerum*

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

a) *Nephrolepis biserrata*

$$\text{Rendemen} = \frac{12,72 \text{ gram}}{60,123 \text{ gram}} \times 100\% = 21,15\%$$

b) *Cyclosorus terminans*

$$\text{Rendemen} = \frac{5,33 \text{ gram}}{60,025 \text{ gram}} \times 100\% = 8,87\%$$

c) *Adiantum philippense*





$$\text{Rendemen} = \frac{4,86 \text{ gram}}{60,033 \text{ gram}} \times 100\% = 8,10\%$$

d) *Adiantum tenerum*


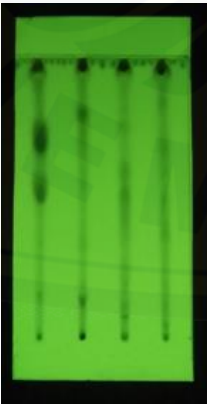

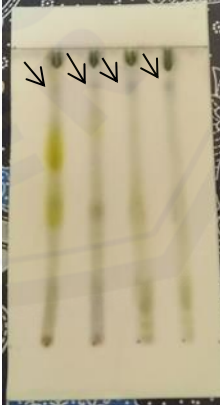
$$\text{Rendemen} = \frac{2,63 \text{ gram}}{37,040 \text{ gram}} \times 100\% = 7,10\%$$

Lampiran 4.4 Hasil Skrining Senyawa Fitokimia



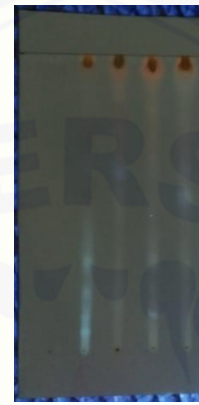

a. Senyawa golongan alkaloid

Sebelum di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 365 nm	Setelah di semprot penampak noda Dragendorff	Keterangan
				Keterangan: 1. Piperin 2. <i>Nephrolepis biserrata</i> 3. <i>Cyclosorus terminanas</i> 4. <i>Adiantum philippense</i> 5. <i>Adiantum tenerum</i> Adanya golongan senyawa alkaloid ditunjukkan dengan noda yang berwarna jingga.


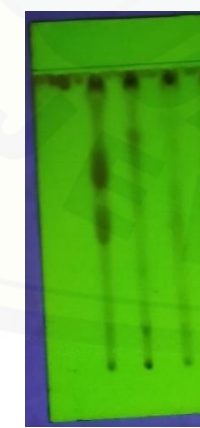

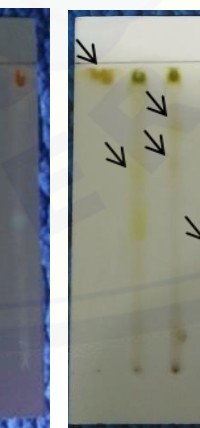
b. Senyawa golongan Terpenoid

Sebelum di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 365 nm	Setelah di semprot penampak noda Anisaldehyd H ₂ SO ₄	Keterangan
				Keterangan: 1. <i>Nephrolepis biserrata</i> 2. <i>Cyclosorus terminanas</i> 3. <i>Adiantum philippense</i> 4. <i>Adiantum tenerum</i> Adanya golongan senyawa terpenoid ditunjukkan dengan noda yang berwarna ungu.

c. Senyawa golongan fenolat

Sebelum di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 365 nm	Setelah di semprot penampak noda FeCl ₃	Keterangan
				<p>Keterangan: Asam galat 2. <i>Nephrolepis biserrata</i> 3. <i>Cyclosorus terminanas</i> 4. <i>Adiantum philippense</i> 5. <i>Adiantum tenerum</i></p> <p>Adanya golongan senyawa fenolat ditunjukkan dengan noda yang berwarna hitam.</p>

d. Senyawa golongan Flavonoid

Sebelum di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 254 nm	Setelah di elusi, dibawah sinar UV 365 nm	Setelah di semprot penampak noda NH ₄ OH	Keterangan
				<p>Keterangan: 1. Kuersetin 2. <i>Nephrolepis biserrata</i> 3. <i>Cyclosorus terminanas</i> 4. <i>Adiantum philippense</i> 5. <i>Adiantum tenerum</i></p> <p>Adanya golongan senyawa flavonoid ditunjukkan dengan noda yang berwarna kuning.</p>

Lampiran 4.5 Perhitungan DPPH Dan Larutan Uji



Pengujian Aktivitas Antioksidan

a. Perhitungan DPPH

Konsentrasi DPPH yang digunakan = 0,1 mM (Molyneux, 2004)

Mr DPPH ($C_{10}H_{12}N_5O_6$) = 394,33 (Molyneux, 2004)

0,1 mM = 0,0001 M

= 0.0001 mol/L

$$= \frac{0,0001 \frac{g}{Mr}}{L}$$

$$= \frac{0,0001 \frac{g}{Mr} \times 394,33}{L}$$

= 0,039433 g/L

= 39,433 mg/L

= 39,433 μ g/mL \approx 40 μ g/mL

Penimbangan:

2 mg DPPH dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a.

$$= \frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L}$$

= 40 μ g/mL

b. Pembuatan larutan uji

1. Kuersetin

Larutan induk

$$\frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,05 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,08 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 16 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 12 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,09 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 18 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,07 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 14 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	10,5 $\mu\text{g/mL}$, 12,6 $\mu\text{g/mL}$, 14,7 $\mu\text{g/mL}$,
Penimbangan = 2,1 mg	16,8 $\mu\text{g/mL}$, 18,9 $\mu\text{g/mL}$, 21 $\mu\text{g/mL}$
Larutan induk = 210 $\mu\text{g/mL}$	
Replikasi 2	10,45 $\mu\text{g/mL}$, 12,54 $\mu\text{g/mL}$, 14,63 $\mu\text{g/mL}$,
Penimbangan = 2,09 mg	16,72 $\mu\text{g/mL}$, 18,81 $\mu\text{g/mL}$, 20,9 $\mu\text{g/mL}$
Larutan induk = 209 $\mu\text{g/mL}$	
Replikasi 3	10,4 $\mu\text{g/mL}$, 12,48 $\mu\text{g/mL}$, 14,56 $\mu\text{g/mL}$,
Penimbangan = 2,08 mg	16,64 $\mu\text{g/mL}$, 18,72 $\mu\text{g/mL}$, 20,2 $\mu\text{g/mL}$
Larutan induk = 208 $\mu\text{g/mL}$	

2. *Neprolepis biserrata*

Larutan induk

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 600 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 800 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,7 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1400 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1 Penimbangan = 20,9 mg Larutan induk = 2090 $\mu\text{g/mL}$	418 $\mu\text{g/mL}$, 627 $\mu\text{g/mL}$, 836 $\mu\text{g/mL}$, 1045 $\mu\text{g/mL}$, 1254 $\mu\text{g/mL}$, 1463 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2 Penimbangan = 20,8 mg Larutan induk = 2080 $\mu\text{g/mL}$	416 $\mu\text{g/mL}$, 624 $\mu\text{g/mL}$, 832 $\mu\text{g/mL}$, 1040 $\mu\text{g/mL}$, 1248 $\mu\text{g/mL}$, 1456 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3 Penimbangan = 20,8 mg Larutan induk = 2080 $\mu\text{g/mL}$	416 $\mu\text{g/mL}$, 624 $\mu\text{g/mL}$, 832 $\mu\text{g/mL}$, 1040 $\mu\text{g/mL}$, 1248 $\mu\text{g/mL}$, 1456 $\mu\text{g/mL}$

3. *Cyclosorus terminans*

Larutan induk

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 150 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 300 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,035 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 350 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 250 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	154,5 µg/mL, 206 µg/mL, 257,5 µg/mL,
Penimbangan = 20,6 mg	309 µg/mL, 360,5 µg/mL, 412 µg/mL
Larutan induk = 2060 µg/mL	
Replikasi 2	154,5 µg/mL, 206 µg/mL, 257,5 µg/mL,
Penimbangan = 20,6 mg	309 µg/mL, 360,5 µg/mL, 412 µg/mL
Larutan induk = 2060 µg/mL	
Replikasi 3	153 µg/mL, 204 µg/mL, 255 µg/mL, 306
Penimbangan = 20,4 mg	µg/mL, 357 µg/mL, 408 µg/mL
Larutan induk = 2040 µg/mL	

4. *Adiantum philippense*

Larutan induk

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 2000 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ µg/mL} = 1000 \text{ µg/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,15 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 150 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,45 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 450 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 250 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,55 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 550 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,35 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 350 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,65 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 650 \text{ µg/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	151,5 µg/mL, 252,5 µg/mL, 353,5 µg/mL,
Penimbangan = 20,2 mg	454,5 µg/mL, 555,5 µg/mL, 656,5 µg/mL
Larutan induk = 2020 µg/mL dan 1010 µg/mL	

Replikasi 2	150,75 µg/mL, 251,25 µg/mL, 351,75 µg/mL,
Penimbangan = 20,1mg	452,25 µg/mL, 552,75 µg/mL, 653,25 µg/mL
Larutan induk = 2010 µg/mL dan 1005 µg/mL	
Replikasi 3	153,75 µg/mL, 256,25 µg/mL, 358,75 µg/mL,
Penimbangan = 20,5mg	461,25 µg/mL, 563,25 µg/mL, 666,25 µg/mL
Larutan induk = 2050 µg/mL dan 1025 µg/mL	

5. *Adiantum tenerum*

Larutan induk

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 2000 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ µg/mL} = 1000 \text{ µg/mL}$$

Pengenceran

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 100 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 400 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 200 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 500 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,3 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 300 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ µg/mL} = 600 \text{ µg/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	102 µg/mL, 204 µg/mL, 306 µg/mL, 408 µg/mL, 510 µg/mL, 612 µg/mL
Penimbangan = 20,4 mg	
Larutan induk = 2040 µg/mL dan 1020 µg/mL	
Replikasi 2	102 µg/mL, 204 µg/mL, 306 µg/mL, 408 µg/mL, 510 µg/mL, 612 µg/mL
Penimbangan = 20,4 mg	

Larutan induk = 2040 $\mu\text{g/mL}$ dan 1020

$\mu\text{g/mL}$

Replikasi 3

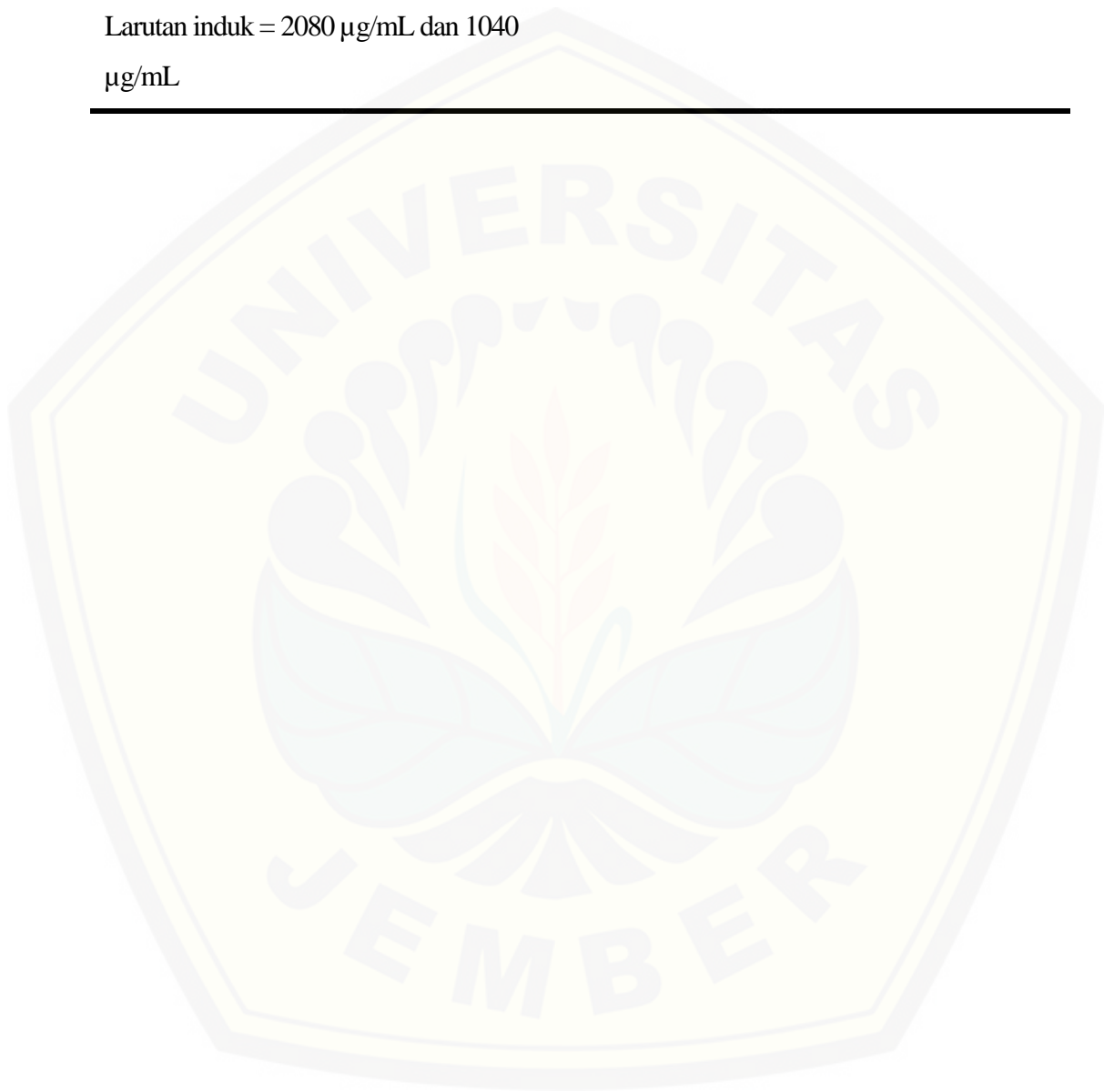
104 $\mu\text{g/mL}$, 208 $\mu\text{g/mL}$, 312 $\mu\text{g/mL}$, 416

Penimbangan = 20,8 mg

$\mu\text{g/mL}$, 520 $\mu\text{g/mL}$, 624 $\mu\text{g/mL}$

Larutan induk = 2080 $\mu\text{g/mL}$ dan 1040

$\mu\text{g/mL}$



Lampiran 4.6 Konsentrasi Pengujian Dalam Kuvet

Larutan kontrol positif (Kuersetin) dan larutan uji ekstrak sebanyak 0,2 mL ditambahkan dengan DPPH 0,8 mL

a. Kuersetin

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 10 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 16 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 12 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 18 \text{ } \mu\text{g/mL} = 3,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 14 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	2,1 $\mu\text{g/mL}$, 2,52 $\mu\text{g/mL}$, 2,94 $\mu\text{g/mL}$, 3,36 $\mu\text{g/mL}$, 3,78 $\mu\text{g/mL}$, 4,2 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	2,09 $\mu\text{g/mL}$, 2,508 $\mu\text{g/mL}$, 2,926 $\mu\text{g/mL}$, 3,344 $\mu\text{g/mL}$, 3,762 $\mu\text{g/mL}$, 4,18 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	2,08 $\mu\text{g/mL}$, 2,496 $\mu\text{g/mL}$, 2,912 $\mu\text{g/mL}$, 3,328 $\mu\text{g/mL}$, 3,744 $\mu\text{g/mL}$, 4,04 $\mu\text{g/mL}$

b. *Neprolepis biserrata*

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/mL} = 120 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 240 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/mL} = 160 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 1400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 280 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	83,6 µg/mL, 125,4 µg/mL, 167,2µg/mL, 209 µg/mL, 250,8 µg/mL, 292,6 µg/mL
Replikasi 2	83,2 µg/mL, 124,8 µg/mL, 166,4 µg/mL, 208 µg/mL, 249,6 µg/mL, 291,2 µg/mL
Replikasi 3	83,2 µg/mL, 124,8 µg/mL, 166,4 µg/mL, 208 µg/mL, 249,6 µg/mL, 291,2 µg/mL

c. *Cyclosorus terminans*

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 150 \text{ µg/mL} = 30 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 300 \text{ µg/mL} = 60 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ µg/mL} = 40 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 350 \text{ µg/mL} = 70 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 250 \text{ µg/mL} = 50 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 400 \text{ µg/mL} = 80 \text{ µg/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	30,9 µg/mL, 41,2 µg/mL, 51,5 µg/mL, 61,8 µg/mL, 72,1 µg/mL, 82,4 µg/mL
Replikasi 2	30,9 µg/mL, 41,2 µg/mL, 51,5 µg/mL, 61,8 µg/mL, 72,1 µg/mL, 82,4 µg/mL
Replikasi 3	30,6 µg/mL, 40,8 µg/mL, 51 µg/mL, 61,2 µg/mL, 71,4 µg/mL, 81,6 µg/mL

d. *Adiantum philippense*

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 150 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 450 \text{ } \mu\text{g/mL} = 90 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 250 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 550 \text{ } \mu\text{g/mL} = 110 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 350 \text{ } \mu\text{g/mL} = 70 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 650 \text{ } \mu\text{g/mL} = 130 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	30,3 $\mu\text{g/mL}$, 50,5 $\mu\text{g/mL}$, 70,7 $\mu\text{g/mL}$, 90,9 $\mu\text{g/mL}$, 111,1 $\mu\text{g/mL}$, 131,3 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	30,15 $\mu\text{g/mL}$, 50,25 $\mu\text{g/mL}$, 70,35 $\mu\text{g/mL}$, 90,45 $\mu\text{g/mL}$, 110,55 $\mu\text{g/mL}$, 130,65 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	30,75 $\mu\text{g/mL}$, 51,25 $\mu\text{g/mL}$, 71,75 $\mu\text{g/mL}$, 92,25 $\mu\text{g/mL}$, 112,75 $\mu\text{g/mL}$, 133,25 $\mu\text{g/mL}$

e. *Adiantum tenerum*

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

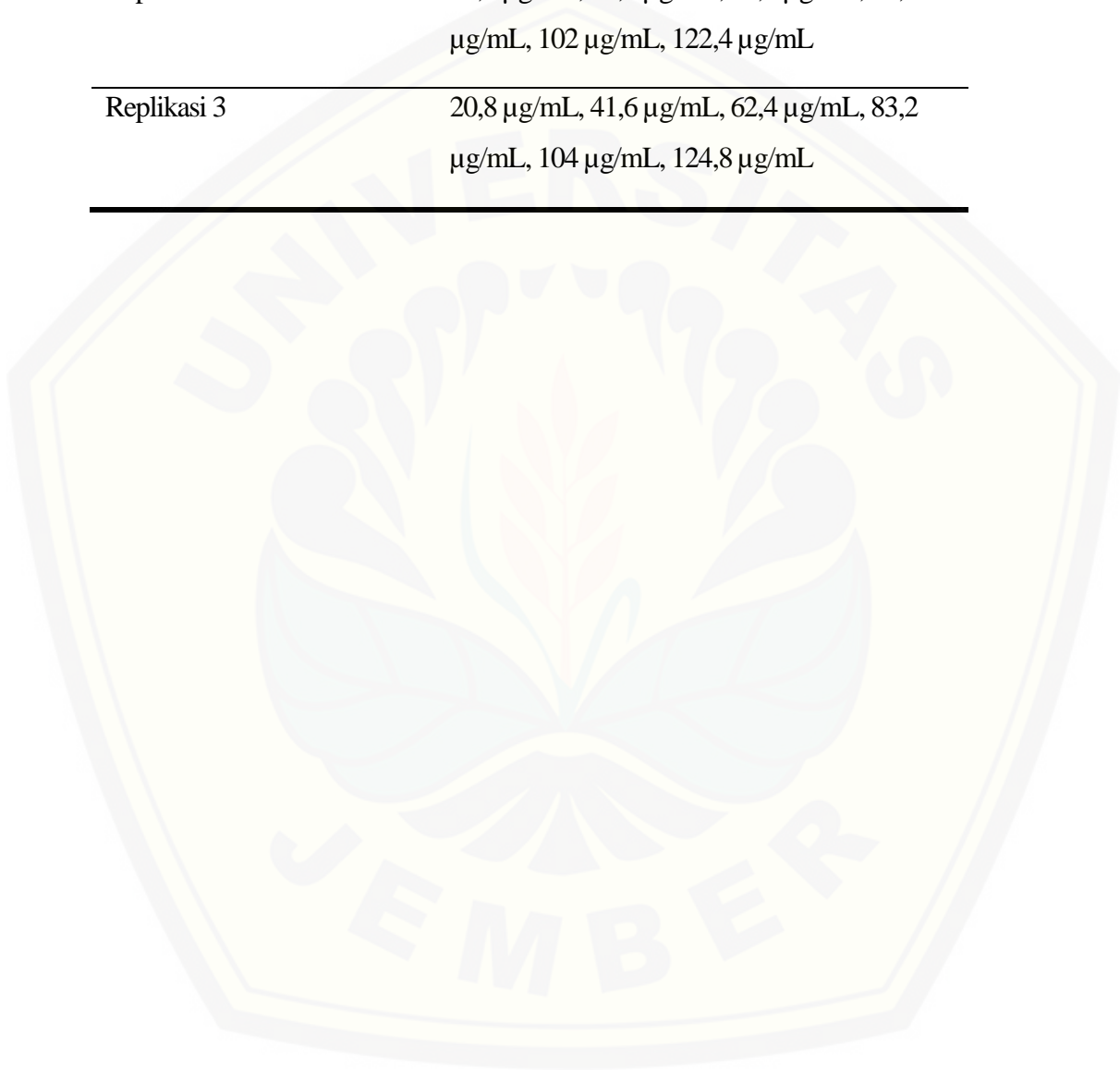
$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 300 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

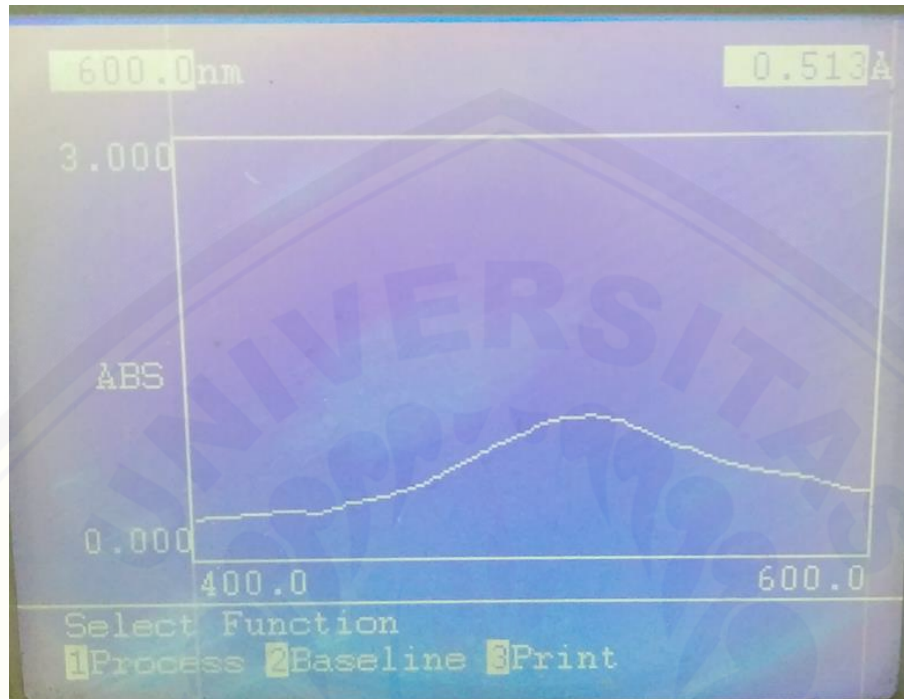
$$\frac{0,2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/mL} = 120 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	20,4 µg/mL, 40,8 µg/mL, 61,2 µg/mL, 81,6 µg/mL, 102 µg/mL, 122,4 µg/mL
Replikasi 2	20,4 µg/mL, 40,8 µg/mL, 61,2 µg/mL, 81,6 µg/mL, 102 µg/mL, 122,4 µg/mL
Replikasi 3	20,8 µg/mL, 41,6 µg/mL, 62,4 µg/mL, 83,2 µg/mL, 104 µg/mL, 124,8 µg/mL



Lampiran 4.7 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

a. Spektrum UV-Vis DPPH 0,1 mM



b. Data hasil penetapan panjang gelombang maksimum DPPH.

ID	WL	ABS
81	520.0	1.048
82	519.0	1.052
83	518.0	1.057
84	517.0	1.058
85	516.0	1.056
86	515.0	1.052
87	514.0	1.047
88	513.0	1.044

Lampiran 4.8 Perhitungan Persen Peredaman DPPH Dan IC₅₀

$$\text{Peredaman DPPH} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Sampel	IC ₅₀	Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL)	SD	CV (%)
Kuersetin	2,826	2,779	0,041	1,504
	2,765			
	2,746			
<i>Nephrolepis biserrata</i>	145,731	144,998	0,865	0,596
	145,22			
	144,044			
<i>Cyclosorus terminanas</i>	45,793	45,994	0,566	1,232
	46,634			
	45,555			
<i>Adiantum philippense</i>	73,740	74,407	0,584	0,785
	74,653			
	74,827			
<i>Adiantum tenerum</i>	71,663	71,994	0,737	1,024
	72,839			
	71,480			

a. Kuersetin

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman	IC ₅₀ (µg/ mL)
10,5	2,1	0,818	0,527	35,575	2,826
12,6	2,52	0,818	0,47	42,543	
14,7	2,94	0,818	0,397	51,467	
16,8	3,36	0,818	0,302	63,081	
18,9	3,78	0,818	0,219	73,227	

21	4,2	0,818	0,16	80,44
----	-----	-------	------	-------

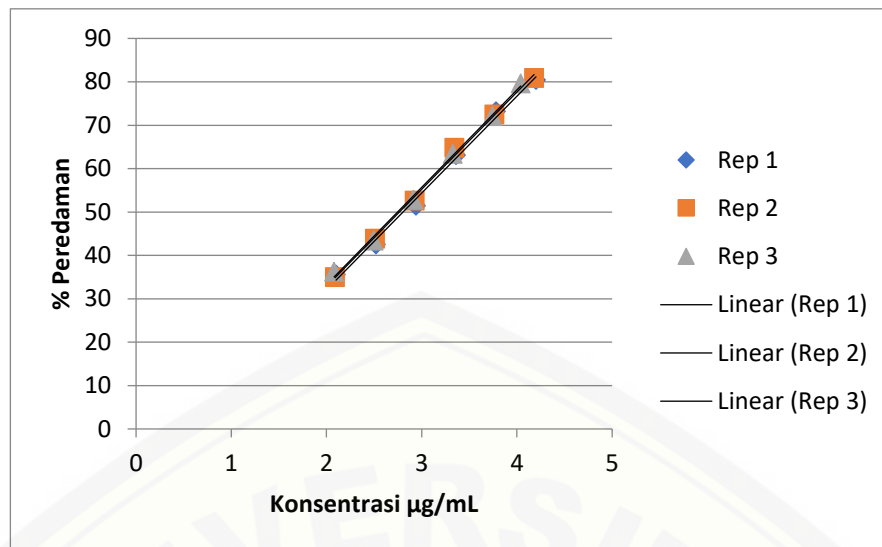
2. Replikasi 2

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
10,45	2,09	0,880	0,572	35	2,765
12,54	2,508	0,880	0,494	43,863	
14,63	2,926	0,880	0,417	52,613	
16,72	3,344	0,880	0,31	64,772	
18,81	3,762	0,880	0,242	72,5	
20,9	4,18	0,880	0,168	80,909	

3. Replikasi 3

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
10,4	2,08	1,115	0,711	36,233	2,746
12,48	2,496	1,115	0,631	43,408	
14,56	2,912	1,115	0,526	52,825	
16,64	3,328	1,115	0,408	63,408	
18,72	3,744	1,115	0,311	72,108	
20,2	4,04	1,115	0,227	79,641	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (µg/mL)
1	$y = 22,313x - 12,563$	0,997	2,826
2	$y = 22,393x - 11,926$	0,998	2,765
3	$y = 22,448x - 11,652$	0,998	2,746
		Rata-rata IC ₅₀ ± SD	2,779 ± 0,041



Kurva persen peredaman dan konsentrasi kuersetin

Perhitungan IC_{50} Kuersetin

– Replikasi 1

$$y = 22,313x - 12,563$$

$$50 = 22,313x - 12,563$$

$$x = \frac{50 + 12,563}{22,313} = 2,826$$

$$IC_{50} = 2,826 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 2

$$y = 22,393x - 11,926$$

$$50 = 22,393x - 11,926$$

$$x = \frac{50 + 11,926}{22,393} = 2,765$$

$$IC_{50} = 2,765 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 3

$$y = 22,448x - 11,652$$

$$50 = 22,448x - 11,652$$

$$x = \frac{50 + 11,652}{22,448} = 2,746$$

$$IC_{50} = 2,746 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{2,826 + 2,765 + 2,746}{3} = 2,779$$

$$SD = 0,041$$

$$CV = 1,504$$

b. *Nephrolepis biserrata*

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
418	83,6	0,989	0,634	35,895	145,731
627	125,4	0,989	0,521	47,321	
836	167,2	0,989	0,463	53,185	
1045	209	0,989	0,351	64,51	
1254	250,8	0,989	0,276	72,093	
1463	292,6	0,989	0,186	81,193	

2. Replikasi 2

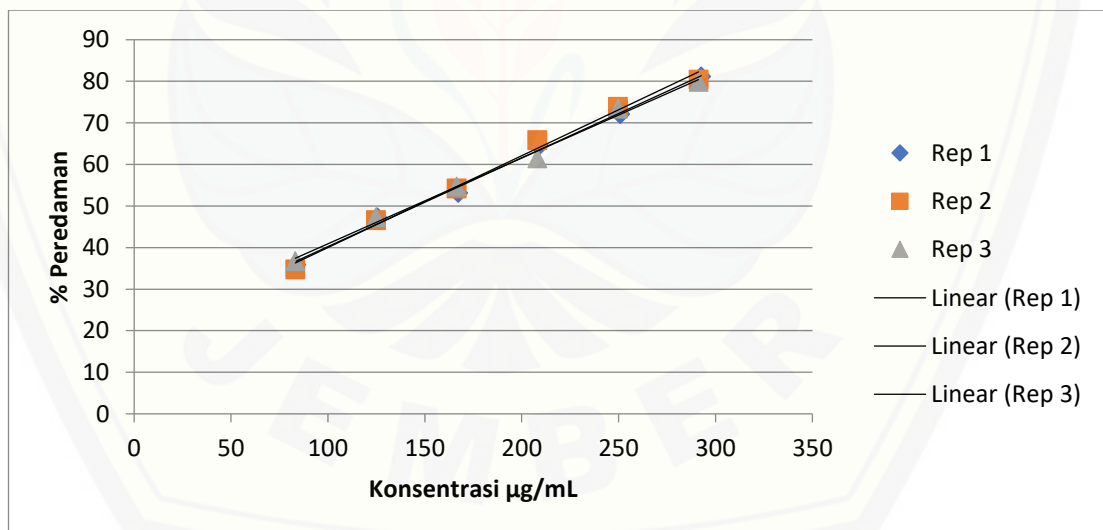
Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
416	83,2	0,841	0,549	34,721	145,22
624	124,8	0,841	0,449	46,611	
832	166,4	0,841	0,385	54,221	
1040	208	0,841	0,287	65,874	
1248	249,6	0,841	0,22	73,841	
1456	291,2	0,841	0,165	80,380	

3. Replikasi 3

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
---------------------	---------------------------------	-----------------	-------------------	------------	--------------------------

416	83,2	0,841	0,634	36,742	144,044
624	124,8	0,841	0,521	47,325	
832	166,4	0,841	0,463	54,697	
1040	208	0,841	0,351	61,474	
1248	249,6	0,841	0,276	73,365	
1456	291,2	0,841	0,186	79,905	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (µg/mL)
1	$y = 0,2134x + 18,901$	0,997	145,731
2	$y = 0,2209x + 17,921$	0,996	145,22
3	$y = 0,2065x + 20,255$	0,997	144,044
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			144,998 ± 0,865



Kurva persen peredaman dan konsentrasi *Nephrolepis biserrata*

Perhitungan IC_{50} *Neprolepis biserrata*

– Replikasi 1

$$y = 0,2134x + 18,901$$

$$50 = 0,2134x + 18,901$$

$$x = \frac{50 - 18,901}{0,2134} = 145,731$$

$$IC_{50} = 145,731 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 2

$$y = 0,2209x + 17,921$$

$$50 = 0,2209x + 17,921$$

$$x = \frac{50 - 17,921}{0,2209} = 145,22$$

$$IC_{50} = 145,22 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 3

$$y = 0,2065x + 20,255$$

$$50 = 0,2065x + 20,255$$

$$x = \frac{50 - 20,255}{0,2065} = 144,044$$

$$IC_{50} = 144,044 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{145,731 + 145,22 + 144,044}{3} = 144,998 \mu\text{g/mL}$$

$$SD = 0,865$$

$$CV = 0,5967$$

c. *Cyclosorus terminans*

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
154,5	30,9	0,843	0,549	34,875	45,793
206	41,2	0,843	0,451	46,501	
257,5	51,5	0,843	0,364	56,821	
309	61,8	0,843	0,291	65,48	
360,5	72,1	0,843	0,23	72,716	
412	82,4	0,843	0,155	81,613	

2. Replikasi 2

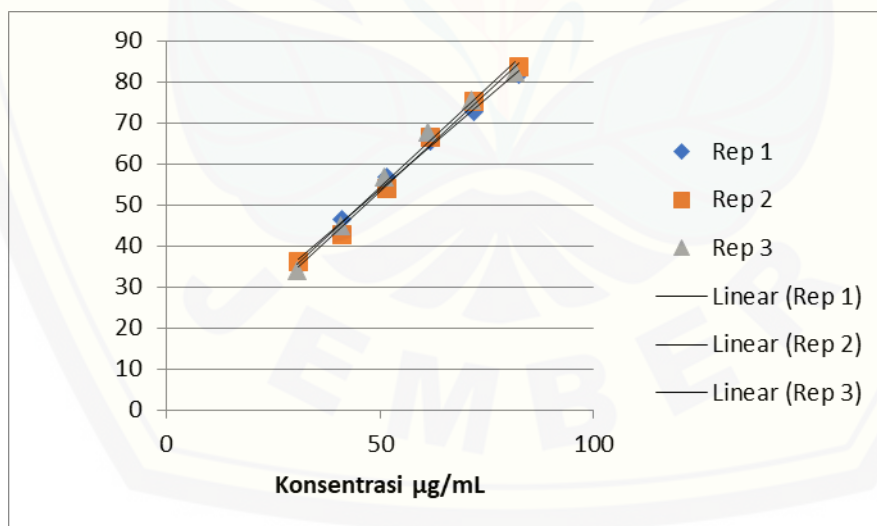
Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
154,5	30,9	0,831	0,531	36,101	46,635
206	41,2	0,831	0,477	42,599	
257,5	51,5	0,831	0,383	53,911	
309	61,8	0,831	0,278	66,546	
360,5	72,1	0,831	0,206	75,211	
412	82,4	0,831	0,135	83,755	

3. Replikasi 3

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
---------------------	---------------------------------	-----------------	-------------------	------------	--------------------------

153	30,6	0,846	0,559	33,924	45,555
204	40,8	0,846	0,465	45,035	
255	51	0,846	0,367	56,619	
306	61,2	0,846	0,274	67,612	
357	71,4	0,846	0,207	75,532	
408	81,6	0,846	0,149	82,388	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (µg/mL)
1	$y = 0,8904x + 9,2256$	0,997	45,793
2	$y = 0,9674x + 4,8857$	0,997	46,635
3	$y = 0,9658x + 6,0025$	0,995	45,555
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			45,994 ± 0,567



Kurva persen peredaman dan konsentrasi *Cyclosorus terminans*

Perhitungan IC₅₀ *Cyclosorus terminans*

– Replikasi 1

$$y = 0,8904x + 9,2256$$

$$50 = 0,8904x + 9,2256$$

$$x = \frac{50 - 9,2256}{0,8904} = 45,793$$

$$IC_{50} = 45,793 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 2

$$y = 0,9674x + 4,8857$$

$$50 = 0,9674x + 4,8857$$

$$x = \frac{50 - 4,8857}{0,9674} = 46,635$$

$$IC_{50} = 46,635 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 3

$$y = 0,9658x + 6,0025$$

$$50 = 0,9658x + 6,0025$$

$$x = \frac{50 - 6,0025}{0,9658} = 45,555$$

$$IC_{50} = 45,555 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{45,793 + 46,635 + 45,555}{3} = 45,994 \mu\text{g/mL}$$

$$SD = 0,567$$

$$CV = 1,2327$$

d. *Adiantum philippense*

1. Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
151,5	30,3	0,823	0,616	25,152	73,74
252,5	50,5	0,823	0,536	34,872	
353,5	70,7	0,823	0,43	47,752	
454,5	90,9	0,823	0,329	60,024	
555,5	111,1	0,823	0,217	73,633	
656,5	131,3	0,823	0,133	83,84	

2. Replikasi 2

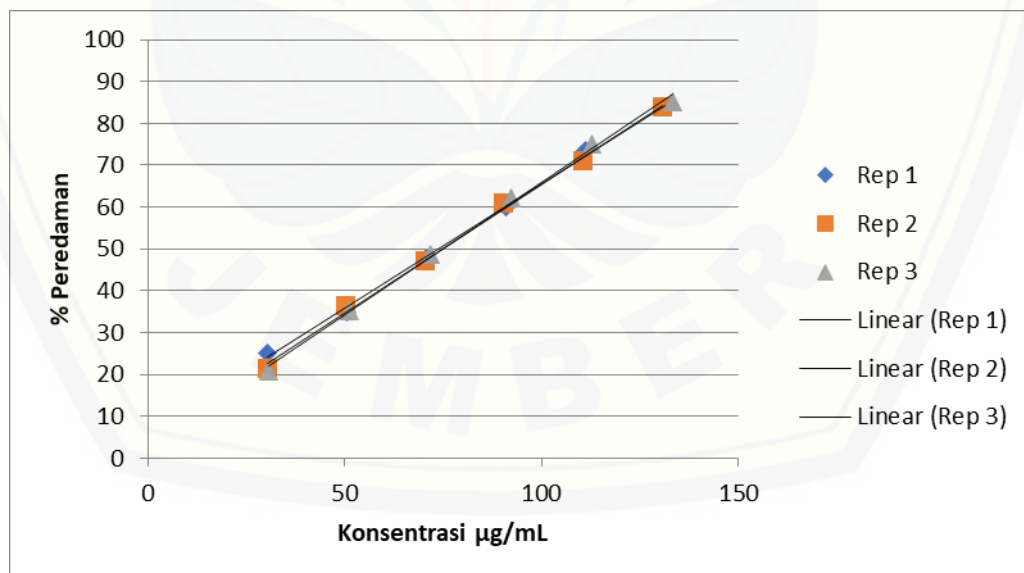
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
150,75	30,15	0,823	0,648	21,264	74,654
251,25	50,25	0,823	0,523	36,452	
351,75	70,35	0,823	0,434	47,266	
452,25	90,45	0,823	0,321	60,996	
552,75	110,55	0,823	0,238	71,081	
653,25	130,65	0,823	0,131	84,083	

3. Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
-------------------------------------	--	--------------------	----------------------	------------	--

153,75	30,75	0,823	0,653	20,656	74,828
256,25	51,25	0,823	0,533	35,237	
358,75	71,75	0,823	0,421	48,846	
461,25	92,25	0,823	0,31	62,333	
563,75	112,75	0,823	0,206	74,97	
666,25	133,25	0,823	0,121	85,298	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (μg/mL)
1	$y = 0,5969x + 5,9845$	0,999	73,74
2	$y = 0,6137x + 4,185$	0,998	74,654
3	$y = 0,6354x + 2,4544$	0,998	74,828
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			74,407 ± 0,5842



Kurva persen peredaman dan konsentrasi *Adiantum philippense*

Perhitungan IC_{50} *Adiantum philippense*

– Replikasi 1

$$y = 0,5969x + 5,9845$$

$$50 = 0,5969x + 5,9845$$

$$x = \frac{50 - 5,9845}{0,5969} = 73,74$$

$$IC_{50} = 73,74 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 2

$$y = 0,6137x + 4,185$$

$$50 = 0,6137x + 4,185$$

$$x = \frac{50 - 4,185}{0,6137} = 74,654$$

$$IC_{50} = 74,654 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 3

$$y = 0,6354x + 2,4544$$

$$50 = 0,6354x + 2,4544$$

$$x = \frac{50 - 2,4544}{0,6354} = 74,828$$

$$IC_{50} = 74,828 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{73,74 + 74,654 + 74,828}{3} = 74,407 \mu\text{g/mL}$$

$$SD = 0,5842$$

$$CV = 0,7852$$

e. *Adiantum tenerum*

1. Replikasi 1

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
102	20,4	0,883	0,718	18,686	71,663
204	40,8	0,883	0,597	32,39	
306	61,2	0,883	0,49	44,507	
408	81,6	0,883	0,376	57,418	
510	102	0,883	0,288	67,384	
612	122,4	0,883	0,188	78,709	

2. Replikasi 2

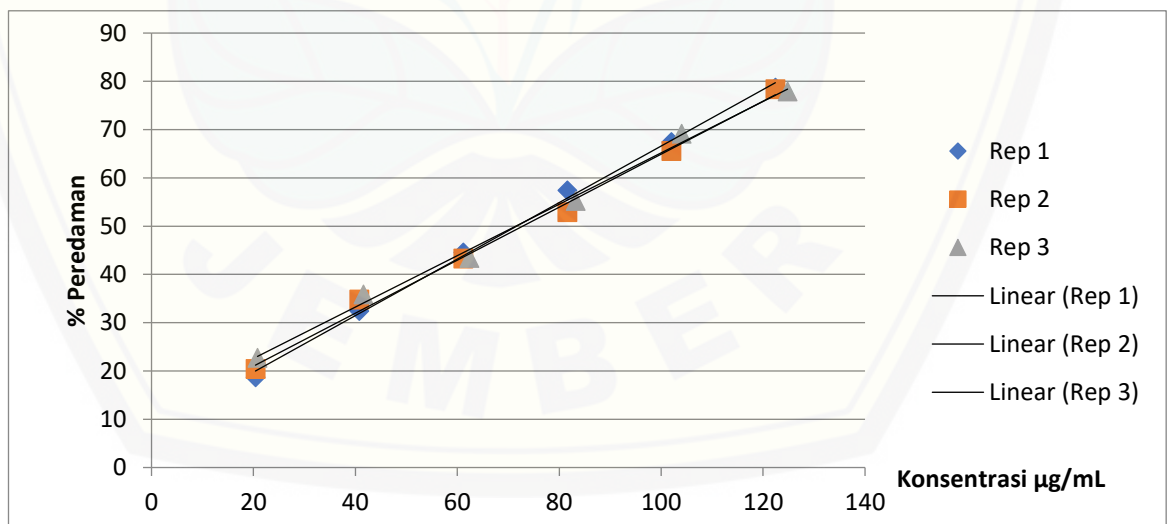
Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
102	20,4	0,883	0,703	20,385	72,84
204	40,8	0,883	0,576	34,768	
306	61,2	0,883	0,501	43,262	
408	81,6	0,883	0,416	52,888	
510	102	0,883	0,304	65,572	
612	122,4	0,883	0,191	78,369	

3. Replikasi 3

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	%Peredaman	IC ₅₀ (µg/mL)
---------------------	---------------------------------	-----------------	-------------------	------------	--------------------------

104	20,8	0,806	0,623	22,705	
208	41,6	0,806	0,517	35,856	
312	62,4	0,806	0,456	43,424	
416	83,2	0,806	0,361	55,211	71,48
520	104	0,806	0,249	69,107	
624	124,8	0,806	0,178	77,916	

Replikasi	Persamaan	r	IC ₅₀ (μg/mL)
1	$y = 0,5854x + 8,0483$	0,998	71,663
2	$y = 0,549x + 10,011$	0,997	72,84
3	$y = 0,5324x + 11,944$	0,997	71,48
Rata-rata IC ₅₀ ± SD			71,994 ± 0,7378



Kurva persen peredaman dan konsentrasi *Adiantum tenerum*

Perhitungan IC_{50} *Adiantum tenerum*

– Replikasi 1

$$y = 0,5854x + 8,0483$$

$$50 = 0,5854x + 8,0483$$

$$x = \frac{50 - 8,0483}{0,5854} = 71,663$$

$$IC_{50} = 71,663 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 2

$$y = 0,549x + 10,011$$

$$50 = 0,549x + 10,011$$

$$x = \frac{50 - 10,011}{0,549} = 72,84$$

$$IC_{50} = 72,84 \mu\text{g/mL}$$

– Replikasi 3

$$y = 0,5324x + 11,944$$

$$50 = 0,5324x + 11,944$$

$$x = \frac{50 - 11,944}{0,5324} = 71,48$$

$$IC_{50} = 71,48 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata } IC_{50} = \frac{71,663 + 72,84 + 71,48}{3} = 71,994 \mu\text{g/mL}$$

$$SD = 0,7378$$

$$CV = 1,0248$$

Lampiran 4.9 Hasil Analisis Dengan SPSS

a. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Kuersetin	,298	3	.	,916	3	,438
	Nephrolepis biserrata	,268	3	.	,951	3	,573
	Cyclosorus terminans	,305	3	.	,906	3	,404
	Adiantum philippense	,330	3	.	,867	3	,286
	Adiantum tenerum	,340	3	.	,849	3	,238

Data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi > 0,05

b. Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,717	4	10	,091

Data terdistribusi homogen dengan nilai signifikansi > 0,05

c. Uji One Way Anova

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32171,333	4	8042,833	20556,808	,000
Within Groups	3,912	10	,391		
Total	32175,246	14			

Terdapat perbedaan yang signifikan antar sampel ditunjukkan dengan nilai signifikansi < 0,05

d. Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kuersetin	Nephrolepis biserrata	-142,219333*	,510718	,000
	Cyclosorus terminans	-43,215000*	,510718	,000
	Adiantum philippense	-71,627667*	,510718	,000
	Adiantum tenerum	-69,215000*	,510718	,000
Nephrolepis biserrata	Kuersetin	142,219333*	,510718	,000
	Cyclosorus terminans	99,004333*	,510718	,000
	Adiantum philippense	70,591667*	,510718	,000
	Adiantum tenerum	73,004333*	,510718	,000
Cyclosorus terminans	Kuersetin	43,215000*	,510718	,000
	Nephrolepis biserrata	-99,004333*	,510718	,000
	Adiantum philippense	-28,412667*	,510718	,000
	Adiantum tenerum	-26,000000*	,510718	,000
Adiantum philippense	Kuersetin	71,627667*	,510718	,000
	Nephrolepis biserrata	-70,591667*	,510718	,000
	Cyclosorus terminans	28,412667*	,510718	,000
	Adiantum tenerum	2,412667*	,510718	,001
Adiantum tenerum	Kuersetin	69,215000*	,510718	,000
	Nephrolepis biserrata	-73,004333*	,510718	,000
	Cyclosorus terminans	26,000000*	,510718	,000
	Adiantum philippense	-2,412667*	,510718	,001

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Terdapat perbedaan yang signifikan pada semua sampel, ditunjukkan dengan nilai signifikansi < 0,05