



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, POLIFENOL, DAN FLAVONOID
EKSTRAK AIR, ASETON, ETANOL BEBERAPA VARIAN DAUN KENTUTU
(*Chrysophyllum cainito L.*) DARI DAERAH JEMBER**

SKRIPSI

Oleh:

**Siti Zulaikhah
NIM 102210101018**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, POLIFENOL, DAN FLAVONOID
EKSTRAK AIR, ASETON, ETANOL BEBERAPA VARIAN DAUN KENTU
(*Chrysophyllum cainito L.*) DARI DAERAH JEMBER**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Siti Zulaikhah
NIM 102210101018**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Waginah dan Ayahanda Kadam, sebagai tempatku bersandar dan berbagai keluh kesah, yang selalu memberiku motivasi, doa-doa disetiap sujudnya, kasih sayang, keikhlasan dan perhatian yang tak terhingga;
2. Adikku tersayang Anis Sukowati yang selalu mendukungku, memberi keceriaan dan sentiasa mendoakanku;
3. Kakak-kakakku, Umi Farida dan Moch. Ali yang telah memberikan kritik yang membangun, membantu dan mendukungku untuk senantiasa belajar;
4. Guru-guruku sejak SD sampai PT terhormat, yang dengan tulus memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Impian tidak terbatas, hanya usaha terbatas yang membuat impian terbatas
(Siti Zulaikhah)

Masa depan bukanlah sesuatu yang untuk kita tunggu, melainkan impian yang akan
kita ciptakan sebagai kenyataan
(Siti Zulaikhah)

Mohonlah pertolongan kepada Allah dengan sabar dan sholat. Dan itu sungguh berat,
kecuali bagi orang-orang yang khusyuk
(terjemahan Q.S. Al-Baqarah ayat 45)¹

¹ Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT Kumudasoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Siti Zulaikhah

NIM : 102210101018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 Juli 2015

Yang menyatakan,

Siti Zulaikhah
NIM. 102210101018

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, POLIFENOL, DAN FLAVONOID
EKSTRAK AIR, ASETON, ETANOL BEBERAPA VARIAN DAUN KENTU
(*Chrysophyllum cainito L.*) DARI DAERAH JEMBER**

Oleh :

**Siti Zulaikhah
NIM 102210101018**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Moch. Amrun H.,S.Si., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Drs. Bambang Kuswandi M.Sc., Ph.D.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul ” Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Senin, 6 Juli 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Moch. Amrun H., S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197801262001121004

Prof. Drs. Bambang K. M.Sc., Ph.D.
NIP. 196902011994031002

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198107232006042002

Lesty Wulandari S.Si., M.Farm., Apt.
NIP. 197604142002122001

Mengesahkan

Dekan,

Lesty Wulandari S.Si., M.Farm., Apt.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember; Siti Zulaikhah, 102210101018; 2015: 48 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting dalam kesehatan, karena mampu menangkap radikal bebas. Salah satu tumbuhan yang mampu menangkap radikal bebas adalah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). Kenitu merupakan buah musiman yang umumnya berbuah pada bulan Juli sampai Agustus, sehingga diperlukan penelitian terhadap daun kenitu yang ketersediaannya di alam lebih berlimpah. Berdasarkan penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Koffie menunjukkan bahwa ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol dan triterpena yang berfungsi sebagai antioksidan (Koffi *et al.*, 2009). Penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun kenitu berbagai varian dengan menggunakan beberapa macam pelarut polar berair. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan jenis pelarut yang dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan terbaik. Selain itu, untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol total dan flavonoid total ekstrak pelarut terpilih berbagai varian daun kenitu.

Tahap awal yang perlu dilakukan dalam penelitian ini adalah pengambilan daun kenitu dengan empat varian yaitu daun dari buah kenitu hijau lonjong (HL), bulat besar (BB), bulat kecil (BK), dan ungu (U). Daun tersebut dilakukan proses sortasi, pengeringan dan penghalusan. Rangkaian kegiatan penelitian ini dibagi menjadi dua prosedur. Prosedur pertama merupakan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan pelarut terpilih dalam mengekstraksi senyawa antioksidan dari daun kenitu. Prosedur kedua adalah penelitian utama bertujuan untuk menentukan dan membandingkan nilai IC_{50} uji antioksidan, kadar total polifenol dan flavonoid dari berbagai varian daun kenitu.

Penelitian pendahuluan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan tujuh macam pelarut yaitu aseton, etanol dan air (konsentrasi 96%, 70%, dan 50%) menunjukkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut terpilih untuk mengekstraksi senyawa antioksidan dari daun kenitu. Ekstrak etanol 70% pada masing-masing varian daun kenitu (BB, HL, U, BK) menghasilkan persen peredaman terbesar 91,088%; 90,914%; 66,549%, dan 89,097%. Kekuatan ekstraksi berbagai varian daun kenitu paling lemah adalah penggunaan pelarut air. Ekstraksi daun kenitu berbagai varian dengan penggunaan pelarut murni (aseton 96% dan etanol 96%) menunjukkan daya ekstraksi senyawa antioksidan yang rendah dibanding kombinasi pelarut polar-air. Perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dengan menggunakan jenis pelarut dan konsentrasi berbeda menyebabkan terjadinya perubahan indeks polaritas pelarut, sehingga aktivitas antioksidan juga berbeda.

Penelitian utama dilakukan dengan membuat ekstrak kental skala besar dengan pelarut terpilih (etanol 70%). Persen rendemen ekstrak tertinggi diperoleh dari daun kenitu HL yaitu 14,61 %. Selanjutnya BB, BK, dan U dengan rendemen masing-masing adalah 12,68%; 11,05% dan 7,05%. Kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ditunjukkan oleh nilai IC_{50} . Berdasarkan hasil penelitian nilai IC_{50} ekstrak daun kenitu BB paling kecil yaitu 36,525 mg/L. Kemudian diikuti nilai IC_{50} ekstrak daun kenitu HL, BK, U berturut-turut adalah 42,338 mg/L, 50,449 mg/L, 72,633 mg/L.

Analisis kandungan total polifenol tertinggi dihasilkan oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu HL yaitu sebesar 361,528 mg GAE/g ekstrak. Selanjutnya secara berturut-turut kadar total polifenol daun kenitu BK, BB, U adalah 289,444 mg/g; 285,139 mg/g dan 90,313 mg/g ekuivalen asam galat. Sedangkan kandungan total flavonoid tertinggi sebesar 20,802 mg QE/g ekstrak yang diperoleh dari ekstrak daun kenitu BB. Kemudian kadar total flavonoid HL 16 mg QE/g ekstrak, BB 15,222 mg QE/g ekstrak dan U 11,905 mg QE/g ekstrak. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa masing-masing varian daun kenitu memiliki aktivitas antioksidan, kandungan total polifenol dan flavonoid berbeda.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Unej, Lesty Wulandari S.Si., M.Farm., Apt., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
2. Moch. Amrun H., S.Si., Apt., M.Farm., selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Drs. Bambang K. M.Sc., Ph.D., selaku dosen pembimbing anggota, serta Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt. dan Lesty Wulandari S.Si., M.Farm., Apt sebagai dosen penguji yang banyak memberikan masukan, perhatian, dan waktunya selama penulisan tugas akhir ini;
4. Ibunda terkasih Waginah dan Ayahanda tersayang Kadam, atas doa yang tiada henti, semangat tiada surut, dan kasih sayang yang tidak pernah padam;
5. Adekku tersayang Anis Sukowati, dan Mbak tercinta Umi Farida, terima kasih atas dukungan dan nasehatnya;
6. Rekan-rekan kenitu Sofyan, zuhro, Iik, Liza, Liyas, dan Mbak Ayu atas semangat kerja keras, dan kekompakan kalian selama pengerjaan tugas akhir dan penelitian;
7. Bu Wayan dan Mbak Hanny selaku Teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang sangat baik, Bu Widi dan Mbak Anggra selaku Teknisi Laboratorium Biologi atas bantuannya;

8. Sahabat-sahabat terbaikku Novanda, Eva, Shinta R., Ukhty Dian A.N., Ukhty Selly, Renny, Mbak Uly, Mbak Lesty, Novita kalianlah tempatku berbagi keluh kesah, yang selalu memberi keceriaan serta canda tawa di setiap hari-hariku dan senantiasa memotivasiku;
9. Sahabat-sahabat UKM PELITA Ukhty Hanifatul Imtitsal, Ukhty Nur Izza azzahra, dan Al-vivo yang menjadi penyemangatku, memotivasiku untuk menyelesaikan skripsi ini;
10. Ukhty-ukhty seperjuangan Ukhty Tira, Ukhty Endah, Ukhty Rosa, Ukhty Kun, Ukhty Irwin, Ukhty Nina, Ukhty Dyah, Ukhty Ummah dan Ukhty Ika atas ukhuwah yang indah ini dan duduk mengkaji ilmu-Nya bersama kalian adalah hal yang selalu kurindukan;
11. Keluarga besar UKM PELITA, atas ilmu, pengalaman, inspirasi, kerjasama dan motivasinya;
12. Sahabat-sahabat Fakultas Farmasi Indri, Ashari, Putri, Ima, Weka, Lukmanto, Neny, Hendra K., Dewi, Dhani, Rara Saba, Rahma, Nazila atas semangat, motivasi, bantuan, dan ikatan pertemanannya;
13. Sahabat-sahabat UKMKI Asy-Syifa' dan LPMF LINGKAR Fakultas Farmasi atas ilmu, kerjasama, motivasi, dan inspirasinya;
14. Sahabat-sahabat Fakultas Farmasi angkatan 2010 dan semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penulisan tugas akhir ini;
15. Sahabat SMP, Nur Malasari, Febriantika, Winda, Cimas atas semangat, dukungan dan motivasinya;
16. Teman-teman KKN kelompok 87 Desa Sucopangepok, Kec. Jelbuk;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kenitu (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Deskripsi Kenitu	5
2.1.2 Morfologi Daun Kenitu	6
2.1.3 Kandungan Kimia Daun Kenitu	7
2.2 Ekstraksi	8
2.3 Pelarut	9
2.4 Radikal Bebas	11
2.5 Antioksidan	12

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	14
2.7 Polifenol sebagai Antioksidan	15
2.8 Flavonoid sebagai Antioksidan	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.3 Variabel Penelitian	18
3.4 Definisi Operasional	18
3.5 Alat dan Bahan	19
3.5.1 Alat	19
3.5.2 Bahan	19
3.6 Prosedur Penelitian	19
3.6.1 Penelitian Pendahuluan	20
3.6.2 Penelitian Utama	22
3.7 Analisis Data	27
3.8 Skema Prosedur Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Penyediaan Bahan Uji	29
4.2 Penelitian Pendahuluan	30
4.3 Penelitian Utama	34
4.3.1 Pembuatan Ekstrak Kental Skala Besar	34
4.3.2 Uji Antioksidan Ekstrak Skala Besar	34
4.3.3 Kandungan Total Polifenol	37
4.3.4 Kandungan Total Flavonoid	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
2.1	Karakteristik sifat pelarut	10
4.1	Persen peredaman DPPH oleh berbagai varian ekstrak daun kenitu dengan pelarut berbeda	32
4.2	Persen rendemen ekstrak kental daun kenitu	34
4.3	Nilai IC ₅₀ dari ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian	36
4.4	Hasil analisis kandungan total polifenol ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian	38
4.5	Hasil analisis kandungan total flavonoid ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian	41

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
2.1	Daun kenitu	7
2.2	Mekanisme pengikatan radikal bebas oleh antioksidan	13
2.3	Struktur DPPH.....	14
2.4	Struktur fenol	15
2.5	Struktur dasar flavonoid	16
4.1	Daun kenitu berbagai varian	29
4.2	Skrining panjang gelombang larutan DPPH pada λ 400-600 nm	30
4.3	Kurva absorbansi rata-rata DPPH dari menit ke-5 hingga menit ke-60 setelah penambahan asam galat	31
4.4	Aktivitas penangkap radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian	35
4.5	Korelasi linier polifenol total (x) dengan aktivitas antioksidan IC_{50} (y) berbagai varian daun kenitu	39
4.6	Korelasi linier flavonoid total (x) dengan aktivitas antioksidan IC_{50} (y) berbagai varian daun kenitu	42

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
A	Perhitungan	52
B	Skrining panjang gelombang maksimum DPPH	61
C	Penentuan waktu pengukuran aktivitas antioksidan	64
D	Data penentuan IC ₅₀ aktivitas antioksidan	65
E	Data analisis kandungan total polifenol	76
F	Data analisis kandungan total flavonoid	79
G	Data analisis statistik	82
H	Dokumentasi penelitian	102
I	Surat keterangan identifikasi daun kenitu	106

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting dalam kesehatan, karena mampu menangkap radikal bebas atau penangkal *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut. Radikal bebas dapat menyerang komponen biologi seperti asam nukleat, protein, lemak, dan DNA, sehingga memicu timbulnya penyakit degeneratif dan penyakit kronis lain seperti kanker dan jantung koroner. Prinsip antioksidan yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen kepada senyawa radikal sehingga terstabilkan (Halliwell, 2001).

Antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen, seperti Vitamin E, Vitamin C maupun berbagai jenis sayuran dan buah-buahan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Meskipun tubuh pada dasarnya dapat menghasilkan antioksidan, tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk menetralkan radikal bebas yang jumlahnya semakin menumpuk di dalam tubuh (Halliwell, 2012). Beberapa penelitian antioksidan alami dihubungkan dengan keberadaan senyawa polifenol yang banyak terdapat dalam tumbuhan (Zou *et al.*, 2004). Salah satu senyawa golongan polifenol terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan adalah flavonoid. Flavonoid sebagai agen antioksidan mampu menetralkan senyawa radikal dengan cara mendonorkan satu atau lebih elektronnya sehingga membentuk molekul yang stabil.

Potensi aktivitas antioksidan pada tumbuhan salah satunya dipengaruhi oleh varietas tanaman. Varietas berperan penting dalam mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif dalam tumbuhan. Perbedaan varietas dalam satu jenis tumbuhan menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol dan kadar flavonoid. Hal ini telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya misal, pada buah Salak (*Salacca*

edulis) varietas Bali dan Ngulumut memiliki kadar senyawa polifenol dan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding salak Pondoh.

Selain varietas, pelarut juga berperan penting dalam mengekstraksi komponen bioaktif dalam tumbuhan. Tujuan proses ekstraksi adalah untuk mendapatkan konsentrasi maksimum senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Ekstraksi dipengaruhi oleh sifat kimia senyawa, pelarut yang digunakan, metode ekstraksi dan adanya komponen zat lain dalam tanaman. Berdasarkan penelitian sebelumnya aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak *Psidium guajava* L. diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut aseton 70% (Musa *et al.*, 2009). Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak dua kultivar buah pepaya (Hongkong dan Eksotika) dengan pelarut aseton, etanol dan metanol berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut metanol 50% (Addai *et al.*, 2013). Penelitian lain pada ekstrak tiga kultivar pisang (Beragan, Mas dan Raja) aktivitas antioksidan tertinggi pisang beragan diperoleh dengan pelarut metanol 50%, sedangkan ekstrak etanol 70% pisang mas dan raja menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi (Shian, *et al.*, 2012). Hal tersebut menunjukkan ekstraksi senyawa antioksidan dipengaruhi oleh pelarut polar berair.

Salah satu tumbuhan yang diperkirakan memiliki manfaat antioksidan adalah kenitu (*Chrysophyllum cainito*). Tanaman kenitu merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis terdiri dari 150 spesies. Namun buah kenitu di Jember memiliki empat varietas, yakni kenitu Bulat Besar (BB), kenitu Hijau Lonjong (HL), kenitu Ungu (U), dan kenitu Bulat Kecil (BK). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat *et al.*, buah kenitu telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Buah kenitu merupakan buah musiman yang umumnya berbuah pada bulan Juli sampai Agustus, sehingga diperlukan penelitian terhadap daun kenitu yang ketersediaannya di alam lebih berlimpah. Berdasarkan penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Koffie menunjukkan bahwa ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol dan triterpena yang berfungsi sebagai antioksidan (Koffi *et al.*, 2009). Oleh sebab itu, dalam penelitian ini akan dieksplorasi manfaatnya dengan pengujian

aktivitas antioksidan, kandungan polifenol total dan flavonoid total ekstrak daun kenitu berbagai varian.

Salah satu upaya untuk memperoleh ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi dari daun kenitu dilakukan dengan menguji aktivitas antioksidan beberapa varian daun kenitu menggunakan pelarut polar berair berbagai konsentrasi pada proses ekstraksi. Variasi pelarut polar berair perlu dilakukan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan dalam daun kenitu belum diketahui sifat kepolarannya. Ekstraksi dengan pelarut berbeda umumnya dapat mengekstrak golongan senyawa yang berbeda. Menurut Shian (2012) sebagian besar pelarut murni (aseton, etanol dan air) memiliki kekuatan ekstraksi yang lemah. Penggunaan pelarut yang dikombinasi dengan air dapat meningkatkan indeks polaritas pelarut dan daya ekstraksi. Dengan demikian, perlu dilakukan pengembangan standar pelarut yang cocok untuk mengekstraksi semua jenis senyawa antioksidan dalam tanaman.

Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan reagen DPPH. Metode uji aktivitas antiradikal bebas dengan reagen DPPH merupakan metode terpilih untuk menapis aktivitas antioksidan bahan alam (Molyneux, 2004). Pada penelitian ini juga dilakukan penentuan kadar polifenol total dan flavonoid total, karena senyawa ini telah diketahui memiliki efektivitas sebagai antioksidan. Daun kenitu diharapkan dapat menjadi alternatif agen antioksidan alami sehingga dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya untuk pengobatan berbagai penyakit yang terkait baik secara langsung maupun tidak langsung dengan radikal bebas.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Pelarut manakah (air, aseton, etanol) yang dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan terbaik pada berbagai varian daun kenitu (BB, HL, U, BK)?
- b. Apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol total dan flavonoid total pada ekstrak pelarut terpilih berbagai varian daun kenitu (BB,

HL, U, BK)?

- c. Apakah terdapat hubungan antara kadar polifenol total dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak pelarut terpilih berbagai varian daun kenitu (BB, HL, U, BK)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Menentukan jenis pelarut (air, aseton, etanol) yang dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan terbaik pada berbagai varian daun kenitu (BB, HL, U, BK).
- b. Mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol total dan flavonoid total ekstrak pelarut terpilih berbagai varian daun kenitu (BB, HL, U, BK).
- c. Mengetahui hubungan antara kadar polifenol total dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak pelarut terpilih berbagai varian daun kenitu (BB, HL, U, BK).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan, kandungan polifenol dan flavonoid dalam daun kenitu.
- b. Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan dapat dijadikan sebagai salah satu upaya pengembangan agen antiradikal bebas dari bahan alam.
- c. Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya dalam pengembangan obat untuk pengobatan berbagai penyakit yang terkait baik secara langsung maupun tidak langsung dengan radikal bebas
- d. Meningkatkan nilai ekonomis daun kenitu yang selama ini belum pernah dimanfaatkan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)

2.1.1 Klasifikasi dan Deskripsi Kenitu

Chrysophyllum cainito L. umumnya dikenal oleh masyarakat daerah Jember dengan istilah kenitu, sedangkan di daerah asalnya (Amerika Tengah) disebut *star apple*. Kenitu berasal dari dataran rendah Amerika Tengah dan Hindia Barat. Karena manfaatnya, kini kenitu telah menyebar ke seluruh daerah tropis. Tanaman ini termasuk dalam famili Sapotaceae dan banyak tumbuh didaerah dengan curah hujan tinggi dan lembab yaitu pada ketinggian 5-1000 meter dari permukaan laut. Kenitu merupakan jenis tumbuhan pohon yang tingginya berkisar 10-30 meter, berumur menahun (perennial). Termasuk tumbuhan hermafrodit (*self-fertile*).

Secara sistematika tumbuhan kenitu diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Subdivisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dileniidae
Ordo : Ebenales
Famili : Sapotaceae
Genus : *Chrysophyllum* L.
Spesies : *Chrysophyllum cainito* L.

(USDA, 2003).

Tanaman kenitu merupakan tumbuhan berakar tunggang, batangnya berkayu, bentuk silindris, tegak, permukaan bergaris kasar, kulit batang abu-abu gelap sampai keputihan dengan banyak bagian pohon yang mengeluarkan lateks (getah

putih yang pekat apabila batangnya dilukai). Bunga kenitu terletak di ketiak daun, berupa kelompok 5-35 kuntum bunga kecil-kecil bertangkai panjang, kekuningan sampai putih lembayung, harum manis. Kelopak 5 helai, bundar sampai bundar telur, mahkota bentuk tabung bercuping 5, bundar telur, panjang sampai 4 mm (Das *et al.*, 2010).

Pohon kenitu menghasilkan buah setelah berumur 5-6 tahun, dan biasanya musim puncak berbuah di Jawa pada musim kemarau. Buah kenitu berbentuk bulat hingga bulat telur sungsang, berdiameter 5-10 cm, dengan kulit buah licin mengkilap, coklat keunguan atau hijau kekuningan sampai keputihan. Kulit agak tebal, liat, banyak mengandung lateks dan tak dapat dimakan. Daging buah putih atau keunguan, lembut dan banyak mengandung sari buah, manis, membungkus endokarp berwarna putih yang terdiri dari 4-11 ruang yang bentuknya mirip bintang jika dipotong melintang bulat, warna hijau keputih-putihan. Bijinya 3-10 butir, pipih agak bulat telur, panjang sekitar 1 cm berwarna coklat muda sampai hitam keunguan dan keras berkilap.

2.1.2 Morfologi Daun Kenitu

Kenitu memiliki daun tunggal dengan permukaan atas berwarna hijau dan bawah coklat atau coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh terutama di sisi bawah daun dan rerantingan. Umumnya panjang daun kenitu 9-14 cm dan lebar 3-5 cm. Helaian daun kenitu agak tebal, kaku, bentuk lonjong (*elliptica*), ujung runcing (*acutus*), pangkal meruncing (*acuminatus*), tepi rata, dan pertulangan menyirip (*pinnate*). Duduk daun berseling, memencar, bentuk lonjong sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm, dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm. Gambar daun kenitu dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun kenitu
(Sumber: Koffie, *et al.*, 2009)

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Kenitu

Kenitu oleh masyarakat banyak dikonsumsi sebagai buah segar, meski juga dapat digunakan sebagai bahan baku es krim atau serbat. Pohon kenitu umumnya digunakan sebagai tanaman hias dan peneduh di taman-taman dan tepi jalan. Kayunya cukup baik sebagai bahan bangunan, dan cabang-cabangnya yang tua dimanfaatkan untuk menumbuhkan anggrek.

Di samping itu, banyak bagian pohon yang berkhasiat obat misalnya kulit kayunya, getah, buah dan biji. Buah kenitu segar yang dikonsumsi dapat mengurangi peradangan pada tengorokan dan paru-paru. Di Venezuela buah setengah masak digunakan untuk mengobati gangguan usus, namun bila berlebihan dapat menyebabkan sembelit. Sedangkan infus kulit buah kaya akan zat tanin yang dapat digunakan untuk tonik, stimulan, obat diare, disentri, menghentikan pendarahan, radang dan obat gonorrhoe. Biji kenitu yang rasanya pahit dimanfaatkan sebagai obat penurun panas, tonik dan diuretik dengan cara ditumbuk. Getah pohon kenitu di Brazil dimanfaatkan untuk mengobati abses, sedangkan di tempat lain digunakan sebagai diuretik, obat penurun panas dan obat untuk disentri (Morton, 1987).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada 12 ekstrak buah yang dapat dimakan menunjukkan sembilan buah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, diantaranya yaitu: buah kenitu menghasilkan senyawa antioksidan antosianin, dan sianidin-3-O- β -glukopiranosida (Einbond *et al.*, 2004). Hidayat *et al.* (2007) dalam

penelitiannya membuktikan buah kenitu memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu penelitian lain menunjukkan bahwa buah kenitu mengandung antioksidan polifenol, katekin, gallokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002).

Daun kenitu digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes oleh suku Aboude-Mandeki. Ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol atau triterpena yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa dengan mekanisme antioksidan (Koffi *et al.*, 2009).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Simplisia yang di ekstraksi mengandung berbagai senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam bidang farmasi meliputi pemisahan bagian aktif tanaman berkhasiat obat dari komponen yang tidak aktif dengan menggunakan pelarut selektif. Selama ekstraksi pelarut berdifusi ke dalam bahan tanaman yang padat, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang berada di luar sel. Bahan pelarut yang mengalir ke dalam ruang sel akan menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai kelarutannya (Ncube *et al.*, 2008).

Metode ekstraksi berdasarkan tingkat kesulitannya dikelompokkan menjadi dua cara yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus (Harborne, 1987). Ekstraksi sederhana terdiri atas: maserasi, perkolasi, reperkolasi, dan diakolasi. Sedangkan ekstraksi khusus terdiri atas: soxhletasi, arus balik, dan ultrasonik. Ultrasonik merupakan metode ekstraksi dengan alat yang menghasilkan frekuensi bunyi atau getaran antara 25-100 KHz.

Metode ekstraksi juga dikelompokkan berdasarkan jenis pelarutnya yaitu fase air dan fase organik. Cara fase air dilakukan dengan menggunakan air, sedangkan cara fase organik dilakukan dengan pelarut organik. Prinsip ekstraksi menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak kontak langsung dengan pelarut pada waktu tertentu, kemudian diikuti dengan pemisahan bahan yang diekstrak.

Proses ekstraksi terdiri dari beberapa tahap yaitu penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan pemisahan. Penghancuran bertujuan untuk mempermudah pengadukan dan kontak bahan dengan pelarutnya pada saat proses pelarutnya. Bahan ditimbang untuk mengetahui berat awal bahan sehingga dapat ditentukan rendemen yang dihasilkan. Bahan yang telah ditimbang kemudian direndam dalam pelarut yang sesuai. Proses perendaman yang dilakukan disebut maserasi. Tahap selanjutnya adalah tahap pemisahan yang terdiri dari penyaringan dan evaporasi. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan residu bahan dan pelarut yang telah mengandung senyawa bioaktif. Pemisahan pelarut dengan senyawa bioaktif yang terikat dilakukan evaporasi sehingga pelarut akan menguap dan diperoleh senyawa hasil ekstraksi. Hasil ekstrak yang diperoleh akan tergantung pada beberapa faktor antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sample, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, dan perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel (Darusman *et al.*, 1995).

2.3 Pelarut

Pelarut merupakan zat berupa cair atau gas yang digunakan untuk melarutkan zat padat, cair atau gas, sehingga menghasilkan larutan. Pelarut berpengaruh dalam memisahkan senyawa bioaktif dari komponen zat lain pada tanaman saat proses ekstraksi. Pelarut dipilih berdasarkan tingkat kepolaran dimana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Sifat kepolaran senyawa dilihat dari gugus polarnya (seperti gugus OH, COOH, dan lain-lain). Derajat polaritas tergantung pada tetapan dielektrik, makin besar tetapan

dielektrik semakin polar pelarut tersebut. Pelarut yang bersifat polar (metanol, aseton, air atau etanol), mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida (Harborne, 1987).

Pemilihan pelarut bertujuan untuk memperoleh pelarut terbaik, yaitu pelarut yang dapat mengekstrak golongan senyawa dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Berdasarkan penelitian sebelumnya pada ekstrak *Psidium guajava* L. yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol, etanol dan aseton dengan konsentrasi 50%, 70% dan 100% menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut aseton 70% (Musa *et al.*, 2009). Penelitian lain aktivitas antioksidan pada ekstrak tiga varietas pisang (Beragan, Mas dan Raja) dengan pelarut aseton, etanol dan metanol konsentrasi 50%, 70%, dan 100%, aktivitas antioksidan tertinggi pisang Beragan diperoleh dengan pelarut metanol 50%, sedangkan ekstrak etanol 70% pisang Mas dan Raja menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi (Shian *et al.*, 2012). Hal tersebut menunjukkan ekstraksi senyawa antioksidan dipengaruhi oleh pelarut polar berair. Menurut Harbone (1987), daun tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, kumarin dan lain-lain. Telah diketahui bahwa senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol yang mampu mendonorkan proton sehingga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Dimana senyawa golongan fenol memiliki gugus hidroksil yang sifatnya cenderung polar. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan pelarut polar (aseton dan etanol) yang dikombinasi dengan air. Berikut karakteristik sifat pelarut aseton, etanol dan air dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik sifat pelarut

Pelarut	Konstanta dielektrik	Berat molekul	Titik didih	Kelarutan
Aseton	21	58,08 kg/mol	56,2°C	Larut dalam air
Etanol	30	46,07 kg/mol	79°C	Larut dalam air
Air	78,54	18,02 kg/mol	100°C	Bercampur dengan pelarut polar

(Sumber: Rowe *et al.*, 2009)

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Halliwell, 2007).

Radikal bebas terbentuk melalui dua cara, yaitu secara eksogen dan endogen. Secara eksogen radikal bebas didapat dari polusi luar melalui jalan pernafasan, makanan, dan penyerapan kulit. Secara endogen radikal bebas diproduksi secara terus menerus pada tubuh manusia sebagai konsekuensi dari metabolisme normal melalui sistem transport normal, dan aktivitas oksidasi seperti siklooksigenase. Radikal bebas diproduksi didalam sel oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, peroksisom, retikulum endoplasma, dan inti sel.

Radikal bebas secara kimia memiliki molekul tidak lengkap yang memungkinkan timbulnya senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai, yang menyebabkan perubahan komponen sel baik komponen struktural (molekul penyusun membran) maupun komponen fungsional yaitu enzim dan DNA. Kerusakan membran sel terutama penyusun membran yang berupa asam lemak tidak jenuh yang merupakan bagian dari fosfolipid atau protein, menimbulkan autoimun, dan proses penuaan.

Salah satu target utama serangan radikal bebas adalah protein, sehingga kehilangan fungsinya dan beberapa jenis enzim kehilangan daya aktifitasnya. Proses hilangnya kemampuan enzim tersebut mengarah pada ketidakakuratan produksi DNA sehingga enzim yang terbentuk berikutnya juga tidak akurat. Kejadian ini terus berulang dan disebut sebagai teori kekacauan klasik (*classic error catastrophy*) (Sholihah *et al*, 2008). Akan tetapi, radikal bebas tidak selalu merugikan. Misalnya, radikal bebas berperan dalam pencegahan penyakit yang disebabkan mikrobia melalui sel-sel khusus yang disebut fagosit.

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menetralkan, atau mencegah pembentukan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Senyawa antioksidan menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya pada senyawa radikal bebas (Halliwell, 2001).

Senyawa antioksidan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak dengan menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit-penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, disfungsi otak, dan artritis (Zuhud, 2011).

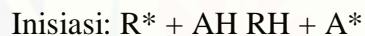
Secara alamiah tubuh manusia memiliki sistem antioksidan yang berfungsi untuk melindungi sel dari serangan radikal bebas, baik yang berasal dari hasil metabolisme sel maupun yang berasal dari lingkungan. Antioksidan tersebut secara alami telah ada di dalam tubuh, yakni: SOD (superoksida dismutase), GPx (glutathione peroxidase), CAT (katalase), dan GST (glutathione-S-transferase). Meskipun demikian, bila produksi radikal bebas dalam tubuh terus meningkat karena pengaruh eksternal diantaranya xenobiotik atau meningkatnya konsumsi makanan yang mengandung asam lemak tak jenuh, maka sistem pertahanan antioksidan tubuh tidak akan efektif melindungi sel dari serangan radikal bebas sehingga terjadi stres oksidatif, untuk mencegah terjadinya stres oksidatif maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar, seperti makanan dan suplemen yang mengandung antioksidan.

Berbagai sumber nutrisi yang mengandung antioksidan diantaranya adalah semua biji-bijian, buah-buahan dan sayuran, hati, tiram, unggas, kerang, ikan, susu dan daging. Antioksidan alami yang terdapat dalam bahan pangan tersebut antara lain adalah vitamin C, vitamin E, antosianin, klorofil dan senyawa flavonoid. Vitamin E alami dapat ditemukan pada *wheat germ* (gandum), minyak sayur, sayuran berdaun hijau, kuning telur dan kacang-kacangan. Vitamin C alami dapat ditemukan pada buah sitrus, tomat, melon, kubis, jambu biji, strawberry, dan sebagainya. Beta karoten

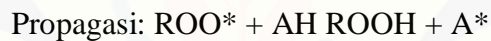
(pro-vitamin A) yang merupakan antioksidan penting dari karotenoid banyak dijumpai pada wortel, blewah, daun singkong, daun bayam dan ubi merah.

Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan primer (*chainbreaking antioxidant*) dan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*). Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Sebuah senyawa dapat disebut sebagai antioksidan primer bila senyawa tersebut dapat mendonorkan atom hidrogennya dengan cepat ke radikal lipid dan radikal antioksidan yang dihasilkan lebih stabil dari radikal lipid atau dapat diubah menjadi produk lain yang lebih stabil. Senyawa yang termasuk dalam kelompok antioksidan primer adalah vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), β -karoten, glutathion, dan sistein (Widowati *et al*, 2005).

Gambar 2.2 merupakan contoh mekanisme pengikatan radikal bebas oleh antioksidan pada oksidasi lemak.



Radikal lipid



Radikal peroksida

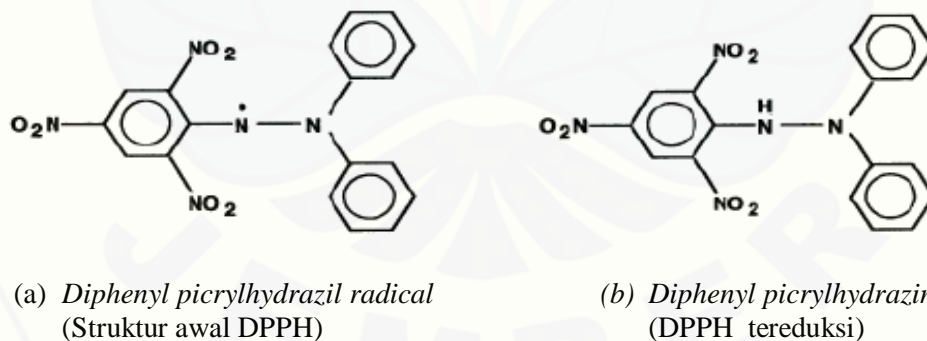
Gambar 2.2 Mekanisme pengikatan radikal bebas oleh antioksidan

Penambahan antioksidan (AH) primer dalam konsentrasi rendah pada lipid dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi. Proses autooksidasi lipid pada tahap inisiasi akan menghasilkan radikal lipid (R^*) bila lipid kontak dengan panas, cahaya, ion metal, dan oksigen. Radikal antioksidan yang terbentuk (A^*) relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid baru. Tahap propagasi terjadi ketika radikal lipid dari tahap inisiasi kontak dengan oksigen membentuk radikal peroksida (ROO^*). Tahap terakhir yaitu terminasi, dimana hidroperoksida ($ROOH$) yang sangat tidak stabil terpecah menjadi senyawa organik berantai pendek seperti keton, aldehid, alkohol, dan asam (Gordon, 1990).

Antioksidan sekunder berfungsi sebagai antioksidan pencegah, yaitu menurunkan kecepatan inisiasi dengan berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen, dan penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk nonradikal. Contoh antioksidan sekunder antara lain turunan asam fosfat, senyawa karoten, sterol, fosfolipid, dan senyawa fenolik (Brewer, 2011).

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan secara in-vitro dapat dilakukan dengan metode DPPH. Pengujian dengan DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana, cepat, akurat, reliable, praktis dan mudah dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil pada suhu kamar. Senyawa ini mengandung nitrogen tidak stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan. Hasil reaksi tersebut berupa DPPH tereduksi (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin) yang tidak reaktif lagi karena telah mendapat donor hidrogen (Molyneux 2004). Struktur DPPH dan DPPH tereduksi hasil reaksi dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur DPPH
(Sumber: Molyneux, 2004)

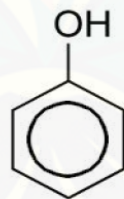
Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 515 nm. Larutan DPPH berwarna ungu gelap, ketika ditambahkan senyawa antioksidan maka warna larutan akan berubah

menjadi kuning cerah. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi.

Sedangkan aktivitas antioksidan pada spektrofotometer ditunjukkan dengan penurunan absorbansi. Metode aktivitas kemampuan mereduksi digunakan untuk menentukan antioksidan total pada sampel. Aktivitas antioksidan diukur sebagai kemampuan mereduksi kalium ferri sianida. Absorbansi yang tinggi menunjukkan kemampuan mereduksi yang tinggi (Molyneux, 2004). Tabel 1 di bawah ini menampilkan pembagian warna dalam spektrum cahaya tampak berdasarkan panjang gelombangnya.

2.7 Polifenol sebagai Antioksidan

Polifenol merupakan senyawa kimia dalam tumbuhan, dengan ciri khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Fenol adalah senyawa dengan satu gugus OH yang terikat pada cincin aromatik, struktur fenol disajikan dalam Gambar 2.4. Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Harbone, 1987).



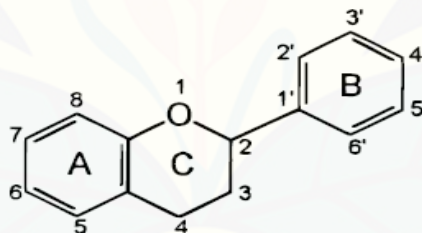
Gambar 2.4 Struktur Fenol
(Sumber: Sirait, 2007)

Polifenol pada kesehatan manusia berperan membantu melawan pembentukan radikal bebas, sehingga dapat memperlambat penuaan dini dan melindungi terhadap berbagai penyakit seperti kanker (Arnelia, 2002). Oleh sebab itu, perlu diketahui kadar polifenol dalam suatu tanaman. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menentukan polifenol total adalah metode spektrofotometri

menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Prinsipnya berdasarkan pada oksidasi senyawa fenol dalam medium basa dengan molibdenum dan tungsten fosfat untuk membentuk kompleks berwarna biru. Intensitas kompleks tungsten-molibdenum yang berwarna biru diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 750 nm (Bajcan *et al.*, 2013). Analisis secara spektrofotometri penting, karena semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Selain itu, senyawa fenol menunjukkan geseran batokrom pada spektrumnya bila ditambahkan basa (Harbone, 1987).

2.8 Flavonoid sebagai Antioksidan

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan polifenol terbesar yang banyak ditemukan di alam. Flavonoid memiliki kerangka dasar yang terdiri atas 15 atom C, dimana dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambung oleh rantai alifatik tiga-karbon (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Struktur dasar senyawa flavonoid disajikan dalam Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur dasar flavonoid
(Sumber: Robinson, 1995)

Senyawa flavonoid alam sering terdapat sebagai glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan alkohol yang saling berikatan (Sirait, 2007). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi (Harborne, 1987).

Flavonoid yang umumnya berwarna hijau bereaksi dengan senyawa radikal melalui transfer elektron atau atom hidrogen sehingga menghasilkan flavonol yang berwarna kuning. Fungsi flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan, sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergi dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antiseptik.

Setiap tumbuhan memiliki kandungan flavonoid yang berbeda-beda, kadar flavonoid dapat ditentukan dengan menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006). Prinsip penetapan kadar flavonoid total yaitu terjadi perubahan warna campuran menjadi kuning akibat terbentuknya kompleks kuersetin- AlCl_3 pada panjang gelombang 420 nm. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg ekuivalen kuersetin (QE)/g ekstrak.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui pengaruh berbagai varian ekstrak daun kenitu terhadap aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Penelitian eksperimental laboratoris merupakan kegiatan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu (Notoatmojo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dimulai pada bulan Mei 2014 sampai Maret 2015.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kenitu hijau lonjong (HL), ungu (U), bulat kecil (BK) dan bulat besar (BB).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan DPPH.
- c. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, solven, dan prosedur pengujian antioksidan.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Lokasi pengambilan sampel daun kenitu hijau lonjong di daerah Summersari, Jember; daun kenitu ungu dan daun kenitu bulat besar di daerah Kalisat, Jember; sedangkan daun kenitu bulat kecil diambil dari daerah Antirogo, Jember. Daun kenitu yang digunakan adalah daun yang diambil 5-6 helai dari pangkal cabang.

- b. Ekstrak daun kenitu adalah ekstrak yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia daun kenitu dengan pelarut etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, air, aseton 96%, aseton 70% dan aseton 50% menggunakan cara ultrasonikasi selama 4 jam.
- c. IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun kenitu untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50%.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ultrasonikator (Elmasonic S180H), *centrifuger* (HermLe Z 206A), *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), mikropipet, spektrofotometer (Hitachi U 1800), dan neraca analitik, seperangkat alat gelas.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar kenitu dengan empat varian yaitu daun kenitu hijau lonjong, daun kenitu ungu, daun kenitu bulat besar, dan daun kenitu bulat kecil dari daerah Jember yang dikumpulkan selama bulan Maret hingga April 2014. Pelarut yang digunakan yaitu: etanol p.a. (Merck), etanol 96% teknis, etanol 70% teknis, etanol 50% teknis, air, aseton 96% teknis, aseton 70% teknis, dan aseton 50% teknis. Reagen DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil), $AlCl_3$, Folin Ciocalteu, Na_2CO_3 , asam galat, kuersetin, semua dari Sigma-Aldrich.

3.6 Prosedur Penelitian

Rangkaian kegiatan penelitian ini dibagi menjadi dua prosedur. Prosedur pertama merupakan penelitian pendahuluan yang meliputi pembuatan ekstrak daun kenitu dalam skala kecil dan penentuan ekstrak terbaik berdasarkan jenis pelarut dengan uji antioksidan dengan metode DPPH. Prosedur kedua merupakan penelitian

utama berupa pembuatan ekstrak kental dengan pelarut terpilih. Penentuan kadar polifenol total, flavonoid total, dan IC_{50} dari uji antioksidan dengan metode DPPH.

3.6.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan meliputi pembuatan ekstrak daun kenitu dalam skala kecil dan penentuan ekstrak terbaik berdasarkan jenis pelarut dengan uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Tujuan yang ingin dicapai adalah menentukan jenis pelarut terbaik yang menghasilkan ekstrak dengan sifat antioksidan yang paling tinggi.

a. Pembuatan Ekstrak Daun Kenitu

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menyerbuk daun kenitu terlebih dahulu yaitu daun kenitu tua yang terkumpul diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung hingga diperoleh simplisia kering, kemudian diblender menjadi serbuk. Serbuk daun kenitu masing-masing 0,5 gram diultrasonikasi menggunakan tujuh macam pelarut, yaitu etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, air, aseton 96%, aseton 70%, dan aseton 50% sebanyak 10 mL selama empat jam pada suhu 30°C. Ampas dan supernatan dipisahkan menggunakan centrifuge (HermLe Z 206A) dengan kecepatan 2.500 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh diuapkan sampai sisa 2 mL pada suhu 60°C. Supernatan kemudian dianalisis untuk menentukan aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel.

b. Skrining Panjang Gelombang Maksimal Larutan DPPH 0,004%

Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara menimbang DPPH kristal dengan neraca analitik sebanyak 10,0 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sampai 25 mL dan diperoleh DPPH dengan konsentrasi 0,04%. Setelah itu, dipipet 5 mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 50 mL hingga diperoleh konsentrasi 0,004%. Larutan 0,004% DPPH dalam etanol ditentukan spektrum absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum. Dimana

absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra. Panjang gelombang pada titik yang memberikan absorbansi tertinggi inilah digunakan sebagai panjang gelombang terpilih.

c. Uji Penentuan Waktu Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji penentuan waktu pengukuran aktivitas antioksidan terpilih adalah waktu awal saat peredaman radikal bebas relatif konstan (*steady state*). Uji ini dilakukan dengan membuat larutan uji asam galat pada konsentrasi 5,0 µg/mL. Larutan uji dipipet sebanyak 300 µL dan ditambah larutan 0,004% DPPH ad 1,5 mL. Larutan uji tersebut diukur pada menit ke-5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 pada panjang gelombang maksimum yang telah di peroleh sebelumnya.

d. Uji Antioksidan dengan Peredaman Warna DPPH

1) Pembuatan Larutan Uji

Supernatan yang diperoleh diencerkan dalam perbandingan yang sama yaitu supernatan dipipet sebanyak 150 µL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 5 mL sebagai larutan induk. Setelah itu, larutan induk dipipet sebanyak 300 µL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 5 mL.

2) Pengukuran Absorbansi Larutan Uji

Pengukuran absorbansi larutan uji dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

- a) Sebanyak 1,5 mL larutan DPPH dimasukkan ke dalam kuvet dan dijadikan sebagai blangko.
- b) Larutan DPPH 0,004% di pipet sebanyak 1,2 mL dicampur dengan 300 µL larutan uji yang telah dibuat dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu tertentu.
- c) Tahap b dilakukan untuk masing-masing larutan uji masing-masing 3 replikasi.
- d) Absorbansi dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang terpilih.

dan dibandingkan nilai IC_{50} untuk mengetahui ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Berikut prosedur penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan yaitu:

1) Pengukuran Absorbansi Larutan Pembanding

Larutan pembanding yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dibuat dengan menimbang asam galat standar sebanyak 5,0 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sampai 10 mL sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, larutan induk dipipet sebanyak 2 mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL hingga diperoleh 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 100 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 1 mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL hingga diperoleh 10 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 10 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 2,0; 4,0; 6,0 dan 8,0 $\mu\text{g/mL}$.

Larutan uji di pipet 0,3 mL masing-masing kedalam 6 vial. Pada masing-masing vial ditambah dengan 1,2 mL larutan DPPH 0,004% dikocok hingga homogen, kemudian di inkubasi pada suhu 37 °C selama waktu tertentu. Absorbansi dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang terpilih. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah larutan DPPH 0,004% dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih.

2) Pengukuran Absorbansi Larutan Uji

Ekstrak etanol ditimbang sebanyak 100,0 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL hingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10000 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, larutan induk dipipet sebanyak 2 mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL hingga diperoleh 2000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan 2000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90 $\mu\text{g/mL}$.

Larutan uji di pipet 0,3 mL masing-masing kedalam 6 vial. Pada masing-masing vial ditambah dengan 1,2 mL larutan DPPH 0,004% dikocok hingga

homogen, kemudian di inkubasi pada suhu 37 °C selama waktu tertentu. Absorbansi dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang terpilih.

3) Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Perhitungan aktivitas antioksidan diukur dari peredaman warna ungu merah DPPH pada panjang gelombang maksimal dengan menggunakan persamaan 1.

Selanjutnya dibuat kurva antara konsentrasi larutan uji dengan peredaman DPPH dan ditentukan IC_{50} yaitu konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH 50 %. Harga IC_{50} umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan bahan uji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. Dari aktivitas peredaman DPPH dibuat kurva:

$$y = bx + a \quad (2)$$

Keterangan: y = peredaman DPPH (%)
 x = konsentrasi larutan uji

Kemudian $y = 50\%$ dimasukkan ke persamaan sehingga diperoleh IC_{50} larutan uji yang merupakan konsentrasi efektif untuk meredam radikal bebas larutan DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004).

c. Penetapan Kadar Polifenol Total

Penetapan kadar polifenol total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Wolfe *et al.*, 2003). Berikut prosedur penentuan kadar polifenol total, yaitu:

1) Pembuatan larutan asam galat

Ditimbang 5 mg asam galat, dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan 1000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 $\mu\text{g/mL}$.

2) Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 100 mg ekstrak, dilarutkan dengan etanol p.a 25 mL hingga didapat

konsentrasi larutan induk 4000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan 4000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 600 $\mu\text{g/mL}$ dan 800 $\mu\text{g/mL}$.

3) Penentuan panjang gelombang maksimal

Sebanyak 0,1 mL larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air), didiamkan 5 menit. Campuran tadi ditambah 0,8 mL Na_2CO_3 (75 g/l air), didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 500 hingga 850 nm. Dimana absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra. Panjang gelombang pada titik yang memberikan absorbansi tertinggi inilah digunakan sebagai panjang gelombang terpilih.

4) Pembuatan kurva kalibrasi

Sebanyak 0,1 mL larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air), didiamkan 5 menit. Campuran tadi ditambah 0,8 mL Na_2CO_3 (75 g/l air), didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang terpilih.

5) Pengujian polifenol total

Sebanyak 0,1 mL larutan sampel dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air), didiamkan 5 menit. Campuran tadi ditambah 0,8 mL Na_2CO_3 (75 g/l air), didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang terpilih. Kandungan polifenol total dinyatakan dalam mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 1 gram ekstrak.

d. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006) dengan sedikit modifikasi. Berikut prosedur penetapan kadar flavonoid total, yaitu :

1) Pembuatan standar kuersetin

Ditimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL hingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian larutan 1000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g/mL}$.

2) Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 100 mg ekstrak, dilarutkan dengan etanol p.a 25 mL hingga diperoleh konsentrasi larutan induk 4000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian larutan 4000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 2000 $\mu\text{g/mL}$.

3) Pentuan panjang gelombang maksimal

Sebanyak 0,7 mL larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,7 mL reagen AlCl_3 2%. Campuran tadi didiamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 200 hingga 500 nm. Dimana absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra. Panjang gelombang pada titik yang memberikan absorbansi tertinggi inilah digunakan sebagai panjang gelombang terpilih.

4) Pembuatan kurva kalibrasi

Sebanyak 0,7 mL larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,7 mL reagen AlCl_3 2%. Campuran tadi didiamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang terpilih.

5) Pengujian flavonoid total

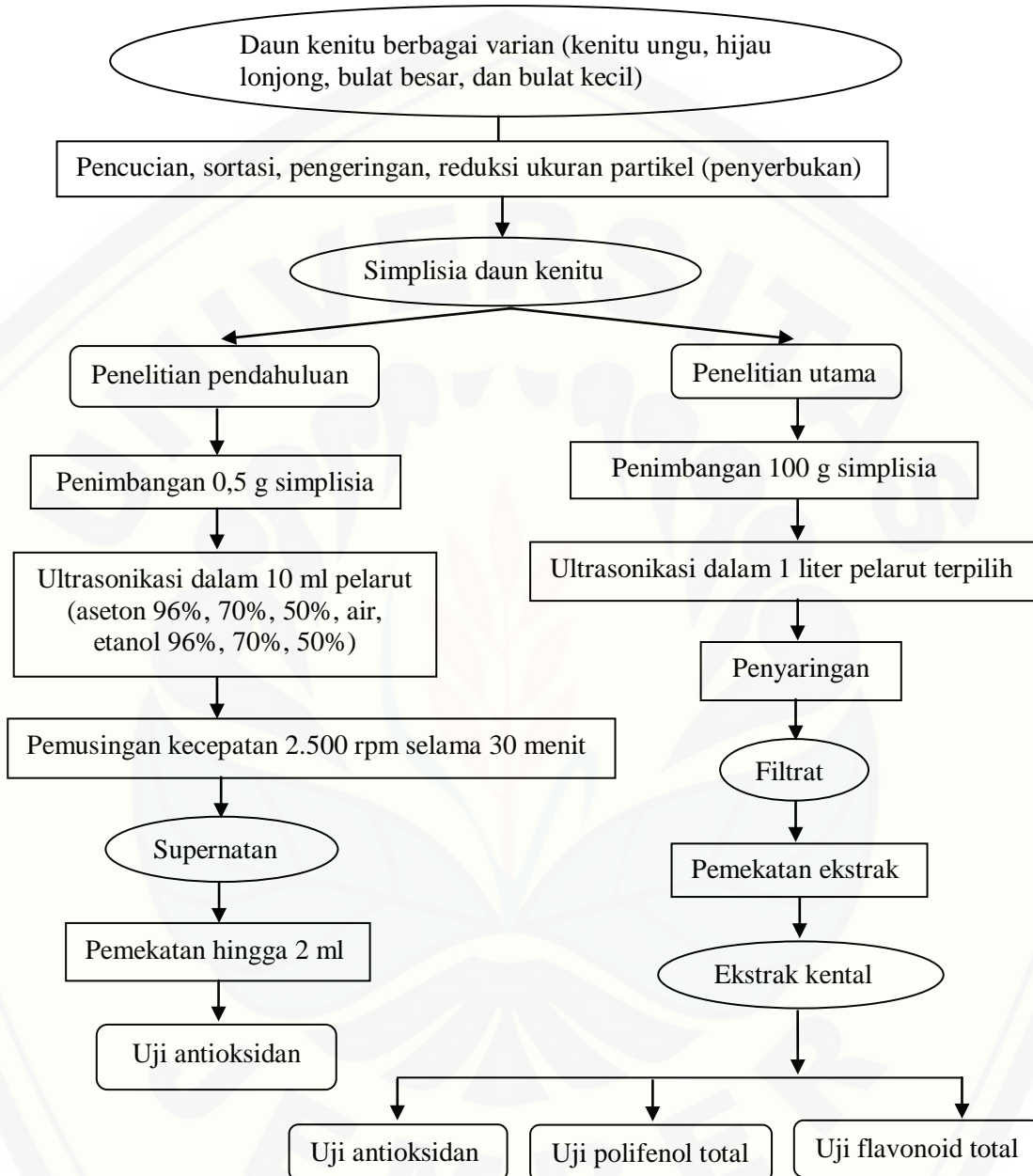
Sebanyak 0,7 mL larutan sampel dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,7 mL reagen AlCl_3 2%. Campuran tadi didiamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid.

Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang terpilih. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg QE (ekuivalensi kuersetin) dalam 1 gram ekstrak.



3.7 Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk menguji perbedaan aktivitas antioksidan antar ekstrak daun kenitu yang diekstraksi dengan berbagai pelarut pada uji pendahuluan. Untuk mengetahui perbedaan potensi aktivitas antioksidan, kadar polifenol total dan flavonoid total pada berbagai varian daun kenitu, digunakan uji Anova satu arah. Berdasarkan uji Anova satu arah jika diperoleh hasil yang berbeda signifikan (nilai $p < 0,05$), maka dilakukan analisis *post-hoc*. Analisis *post-hoc* pada uji anova dilakukan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Uji LSD bertujuan untuk memilih alternatif manapun yang memiliki hasil relatif sama. Hasil uji LSD signifikan bila didapatkan harga $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% (Dahlan, 2006).

3.8 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 3.1 Skema prosedur penelitian

Keterangan :  menunjukkan hasil
 menunjukkan proses

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

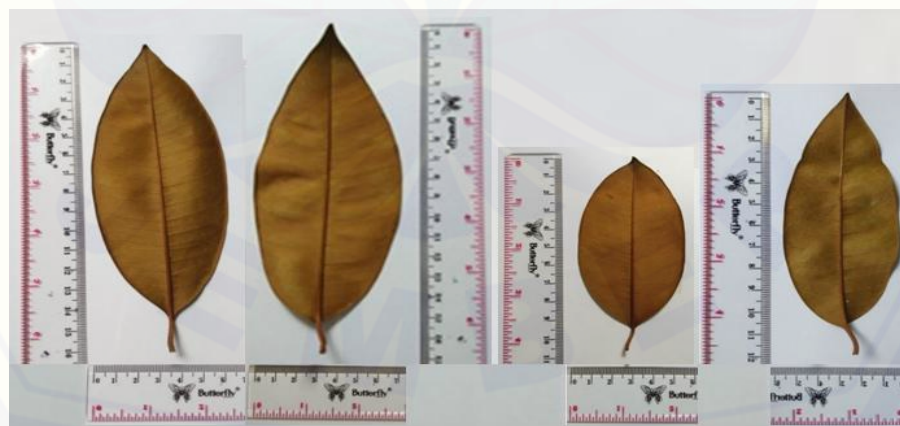
4.1 Penyediaan Bahan Uji

Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenitu, dengan empat varian yaitu hijau lonjong, ungu, bulat besar, dan bulat kecil dari daerah Jember yang dikumpulkan selama bulan Maret hingga April 2014 (Gambar 4.1). Daun kenitu yang diambil adalah daun kenitu tua (berwarna hijau). Daun tersebut dilakukan proses sortasi, pengeringan, dan penghalusan.



(a) BB (b) BK (c) HL (d) U

Daun kenitu berbagai varian tampak permukaan atas



(e) BB (f) BK (g) HL (h) U

Daun kenitu berbagai varian tampak permukaan bawah

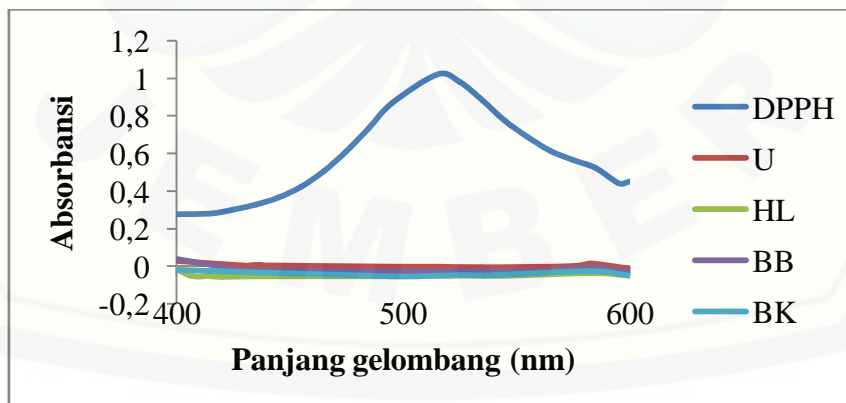
Gambar 4.1 Daun kenitu berbagai varian

Berdasarkan Gambar 4.1 dapat diketahui bahwa daun dari buah kenitu bulat kecil memiliki luas paling besar yaitu dengan panjang 15,2 cm dan lebar 6,9 cm. Sedangkan daun dari buah kenitu bulat besar, ungu, dan hijau lonjong masing-masing memiliki panjang (14,7 cm, 10,5 cm, dan 9,5 cm) dengan lebar (6,4 cm, 4,9 cm, dan 5,2 cm). Semua warna berbagai varian daun kenitu sama yaitu hijau tua pada permukaan atas sedangkan permukaan bawah berwarna coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh di sisi bawah dan tulang daun.

4.2 Penelitian Pendahuluan

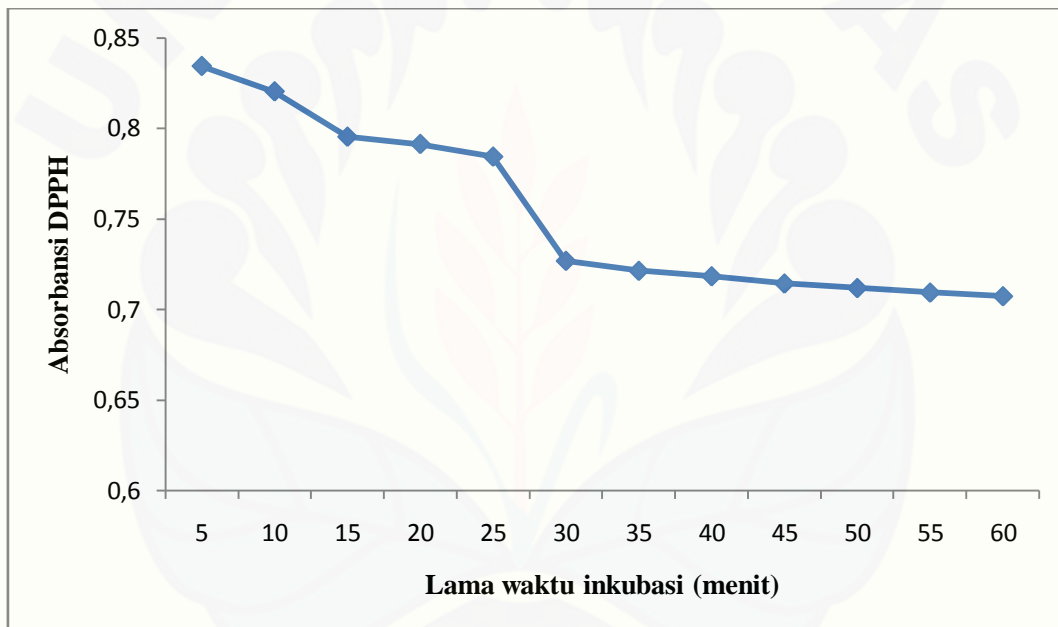
Penelitian pendahuluan ini meliputi pembuatan ekstrak daun kenitu dalam skala kecil dan penentuan ekstrak terbaik berdasarkan jenis pelarut melalui uji antioksidan dengan metode DPPH. Hasil pelarut terbaik yang mampu mengekstraksi senyawa dengan aktivitas antioksidan tertinggi digunakan sebagai acuan untuk ekstraksi dalam skala besar pada penelitian utama.

Pengujian aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dilakukan dengan metode DPPH dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Optimasi panjang gelombang DPPH menunjukkan serapan maksimum larutan DPPH terletak pada panjang gelombang 515 nm (Gambar 4.2). Selanjutnya, semua uji antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan pengukuran pada panjang gelombang tersebut.



Gambar 4.2 Kurva skrining panjang gelombang larutan DPPH dan sampel (U, HL, BB, dan BK) 80 ppm pada λ 400-600 nm

Sebelum dilakukan uji aktivitas antioksidan pada sampel, terlebih dahulu ditentukan waktu pengukuran aktivitas antioksidan terpilih yaitu waktu awal saat peredaman radikal bebas relatif konstan (*steady state*). Waktu reaksi dikatakan maksimum jika reaksi terjadi sampai membentuk plateau (Molyneux, 2004). Hasil penelitian pada Gambar 4.3 dapat dilihat dari menit ke-5 sampai ke-30 terjadi penurunan absorbansi larutan DPPH, sedangkan mulai dari menit ke-35 dan seterusnya, perubahan absorbansi yang terjadi tidak terlalu ekstrim karena proses peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan sudah tidak terlalu signifikan. Oleh karena itu uji aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan pada menit ke-30.



Gambar 4.3 Kurva absorbansi rata-rata DPPH dari menit ke-5 hingga menit ke-60 setelah penambahan asam galat

Pengambilan senyawa antioksidan saat proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang umum digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan adalah metanol, etanol dan aseton. Kepolaran pelarut merupakan salah satu faktor penting dalam ekstraksi senyawa antioksidan. Hasil penelitian pengaruh kepolaran pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun kenitu berbagai varian ditunjukkan oleh besarnya kemampuan meredam radikal bebas DPPH.

Tabel 4.1 Aktivitas peredaman DPPH rata-rata (n = 3) oleh berbagai varian ekstrak daun kenitu dengan pelarut berbeda

Pelarut		Peredaman DPPH rata-rata (%) \pm SD			
		Daun Kenitu Bulat Besar	Daun Kenitu Hijau Lonjong	Daun Kenitu Ungu	Daun Kenitu Bulat Kecil
Aseton	96%	19,936 \pm 0,333 ^a	43,031 \pm 0,592 ^g	39,534 \pm 0,358 ⁿ	38,774 \pm 0,681 ^t
	70%	60,305 \pm 0,868 ^b	40,254 \pm 0,647 ^h	25,030 \pm 0,271 ^o	53,081 \pm 0,838 ^u
	50%	52,507 \pm 0,806 ^c	56,699 \pm 1,008 ⁱ	32,624 \pm 0,386 ^p	75,135 \pm 1,015 ^v
Air		18,851 \pm 0,143 ^a	21,768 \pm 0,139 ^j	16,069 \pm 0,141 ^q	25,843 \pm 0,408 ^w
Etanol	96%	25,175 \pm 0,402 ^d	53,251 \pm 0,719 ^k	62,203 \pm 1,224 ^r	44,873 \pm 0,809 ^x
	70%	91,088 \pm 0,881 ^e	90,914 \pm 1,717 ^l	66,549 \pm 0,616 ^s	89,097 \pm 1,600 ^y
	50%	68,099 \pm 0,900 ^f	59,233 \pm 0,445 ^m	61,980 \pm 1,130 ^r	52,228 \pm 0,496 ^u

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan menggunakan uji post hoc ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.1 menunjukkan kekuatan ekstraksi berbagai varian daun kenitu dalam meredam radikal bebas DPPH paling lemah adalah penggunaan pelarut air. Pada ekstrak aseton 96% dan etanol 96% daun kenitu bulat besar mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 19,936% dan 25,175%. Persen peredaman tersebut lebih kecil dibanding ekstrak daun kenitu dengan pelarut aseton 50% dan etanol 50% yaitu 52,507% dan 68,099%. Hal ini sama dengan ekstrak aseton 96% dan etanol 96% daun kenitu bulat kecil yang memiliki kemampuan meredam radikal bebas DPPH lebih rendah dibanding ekstrak daun kenitu dengan pelarut aseton 50% dan etanol 50%. Maka ekstraksi daun kenitu bulat besar, hijau lonjong, ungu dan bulat kecil dengan penggunaan pelarut murni (aseton 96% dan etanol 96%) menunjukkan daya ekstraksi senyawa antioksidan yang rendah dibanding kombinasi pelarut polar-air.

Ekstraksi daun kenitu berbagai varian menggunakan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibanding ekstrak dengan pelarut yang lain. Ekstrak etanol 70% pada masing-masing varian daun kenitu (bulat besar, hijau lonjong, ungu dan bulat kecil) menghasilkan persen peredaman terbesar yaitu 91,088%; 90,914%; 66,549% dan 89,097%. Hal ini menunjukkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut terpilih untuk mengekstraksi senyawa antioksidan dari daun kenitu. Hal ini sejalan dengan penelitian Shian *et al.* (2012) yaitu penggunaan pelarut etanol 70% menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak pisang Mas dan

Raja. Hasil penelitian Al-Lawi (2011) melaporkan bahwa pelarut etanol 70% merupakan pelarut paling baik untuk mengekstraksi kulit kacang gude hitam ditinjau dari kadar total antosianin, kadar total polifenol dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH. Anwar *et al.* (2013) menyimpulkan bahwa penggunaan kombinasi pelarut organik dan air dapat meningkatkan kelarutan senyawa antioksidan dalam proses ekstraksi. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut terpilih untuk mengekstraksi senyawa antioksidan daun kenitu.

Perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dengan menggunakan jenis pelarut dan konsentrasi berbeda menyebabkan terjadinya perubahan indeks polaritas pelarut, sehingga aktivitas antioksidan juga berbeda. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan metode Anova satu arah dan dilanjutkan uji post hoc. Hasil analisis Anova satu arah (lampiran G) menghasilkan nilai signifikan yaitu $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap persen peredaman DPPH ekstrak daun kenitu berbagai varian.

Penelitian oleh Sultana *et al.* (2009) menunjukkan bahwa nilai persen peredaman radikal bebas DPPH beberapa ekstrak tanaman obat tidak hanya dipengaruhi oleh tanaman obat yang digunakan, tetapi juga oleh jenis pelarutnya. Pada penelitian tersebut persen peredaman radikal bebas DPPH ekstrak metanol absolut dan etanol absolut relatif lebih rendah dibanding ekstrak metanol 80% dan etanol 80%. Menurut Addai *et al.* (2013) dalam penelitiannya pada dua varietas pepaya membuktikan bahwa pelarut mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan juga ditemukan pada tanaman lain, seperti *Quercus infectoria galls* (Hasmida *et al.*, 2014), kembang kol (Anwar *et al.*, 2013), terong (Makhlouf, 2013), salak (Ariviani *et al.*, 2013), dan pisang (Shian *et al.*, 2012).

4.3 Penelitian Utama

Penelitian utama yang dilakukan berupa pembuatan ekstrak kental skala besar dengan pelarut terpilih dari hasil penelitian pendahuluan, yang dilanjutkan dengan uji antioksidan menggunakan metode DPPH, penentuan total polifenol dan kadar flavonoid pada ekstrak daun kenitu berbagai varian.

4.3.1 Pembuatan Ekstrak Kental Skala Besar

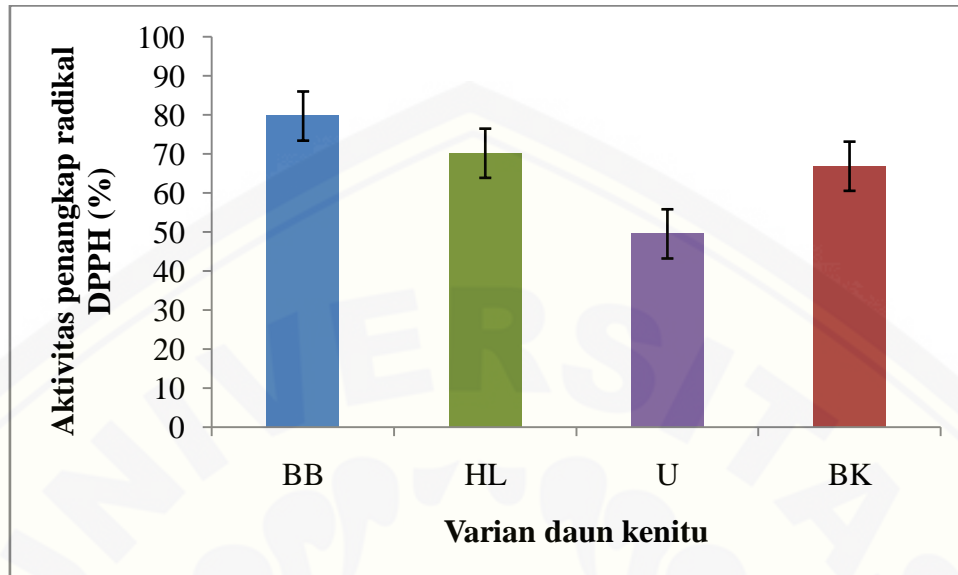
Hasil pembuatan ekstrak kental skala besar (Tabel 4.2) menunjukkan ekstraksi tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun kenitu HL dengan rendemen sebesar 14,61 %. Sedangkan untuk ekstrak etanol 70% daun kenitu BB, U, dan BK menghasilkan rendemen berturut-turut adalah 12,68 %; 7,05 % dan 11,05 %. Persen rendemen ekstrak etanol 70% daun kenitu HL lebih tinggi karena saat diekstraksi senyawa-senyawa yang terlarut dalam etanol 70% lebih banyak dibanding senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam daun kenitu BB, U dan BK.

Tabel 4.2 Persen rendemen ekstrak kental daun kenitu

Simplisia	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
BB	100	12,68	12,68
HL	100	14,61	14,61
U	100	7,05	7,05
BK	100	11,05	11,05

4.3.2 Uji Antioksidan Ekstrak Skala Besar

Pengujian antioksidan metode DPPH merupakan salah satu cara sederhana dalam menentukan aktivitas antioksidan pada tanaman secara *in-vitro* dengan menggunakan DPPH sebagai senyawa pendeteksi. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Molyneux, 2004). Pengujian antioksidan dengan DPPH akan menghasilkan nilai IC_{50} yang menyatakan seberapa besar konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Perhitungan nilai IC_{50} diperoleh dari penghambatan radikal bebas pada berbagai konsentrasi ekstrak.



Gambar 4.4 Aktivitas penangkap radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian dengan konsentrasi masing-masing 70 mg/L. (BB: bulat besar, HL: hijau lonjong, U: ungu, BK: bulat kecil), (n=3)

Kemampuan peredaman radikal bebas paling baik dimiliki oleh ekstrak daun kenitu bulat besar dibanding ekstrak daun kenitu varian lain (Gambar 4.5). Aktivitas peredaman radikal bebas dibuktikan dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning, ketika larutan DPPH ditambah ekstrak. Saat penambahan ekstrak daun kenitu bulat besar pada larutan DPPH perubahan warna ungu menjadi kuning lebih cepat dibanding dengan waktu penambahan ekstrak daun kenitu varian lain.

Prinsip metode penangkapan radikal bebas merupakan pengukuran penangkapan radikal bebas dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (Pokorni, 2001). Mekanisme penangkapan radikal bebas DPPH oleh antioksidan yaitu berupa donasi proton (atom hidrogen) kepada radikal bebas (Molyneux, 2004). DPPH dalam bentuk non-radikal akan kehilangan warna ungunya yang mana pemudaran warna ini dapat ditunjukkan dengan penurunan serapan dari DPPH pada panjang gelombang optimumnya yang diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Pengukuran

penurunan serapan DPPH pada larutan uji dihitung terhadap serapan kontrol yaitu larutan DPPH dan pelarut tanpa sampel.

Penentuan nilai IC_{50} dilakukan dengan membuat persamaan regresi persentase aktivitas penangkap radikal bebas DPPH ekstrak daun kenitu terhadap konsentrasi ekstrak. Selanjutnya dibuat kurva antara persen penangkap radikal bebas terhadap konsentrasi larutan uji untuk menentukan nilai IC_{50} . Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran D.

Tabel 4.3 Nilai IC_{50} rata-rata ($n = 3$) dari ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian

Sampel	IC_{50} (mg/L) (rata-rata \pm SD)
Bulat Besar	$36,525 \pm 0,095^a$
Hijau Lonjong	$42,338 \pm 0,303^b$
Ungu	$72,633 \pm 0,948^c$
Bulat Kecil	$50,449 \pm 0,637^d$
Asam Galat	$4,850 \pm 0,075^e$

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan menggunakan uji post hoc ($p < 0,05$)

Tabel 4.3 hasil uji antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak daun kenitu berbagai varian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak daun kenitu bulat besar paling kecil yaitu 36,525 mg/L. Kemudian diikuti nilai IC_{50} ekstrak daun kenitu hijau lonjong, bulat kecil, dan ungu berturut-turut adalah 42,338 mg/L, 50,449 mg/L, 72,633 mg/L. Dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH. Artinya pada konsentrasi tersebut ekstrak daun kenitu sudah memiliki potensi sebesar 50% dalam menangkal radikal bebas. Sementara asam galat yang digunakan sebagai pembanding memiliki IC_{50} sebesar 4,850 μ g/ml. Nilai IC_{50} asam galat lebih kecil dibanding dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian. Hal ini disebabkan karena asam galat merupakan senyawa murni dibanding keempat varian ekstrak etanol 70% daun kenitu yang masih dalam bentuk campuran dari beberapa senyawa.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan metode Anova satu arah dan

dilanjutkan uji post hoc. Hasil analisis Anova satu arah (lampiran G) menghasilkan nilai $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa masing-masing varian daun kenitu memiliki kandungan senyawa dengan potensi aktivitas antioksidan yang berbeda secara bermakna pada semua varian. Aktivitas antioksidan tiap jenis daun kenitu dipengaruhi oleh kandungan total polifenol dan flavonoid. Hal ini dapat dilihat pada kadar total polifenol dan flavonoid daun kenitu ungu paling kecil diantara ketiga jenis daun kenitu tersebut, sehingga memiliki aktivitas antioksidan terendah. Pengaruh jenis varietas terhadap aktivitas antioksidan juga ditemukan pada sampel lain seperti blueberry, pisang, apel, rumput laut, salak, dan buah kenitu. Semakin tinggi kadar polifenol dan flavonoid suatu varietas tanaman, maka aktivitas antioksidannya pun semakin tinggi (Ariviani *et al.*, 2013; Matthes *et al.*, 2008; Putranti, 2013; Shian *et al.*, 2012).

4.3.3 Kandungan Total Polifenol

Analisis total polifenol dilakukan untuk mengetahui kandungan total polifenol daun kenitu. Senyawa golongan polifenol banyak terdapat di alam terutama pada tumbuh-tumbuhan, dan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas (Harborne, 1987). Kandungan total polifenol ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar. Penentuan kandungan total polifenol dengan metode Folin-Ciocalteu dilakukan berdasarkan kemampuan reagen Folin-Ciocalteu mengoksidasi gugus hidroksil (OH^-) dari senyawa golongan fenol.

Analisis kandungan total polifenol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 751 nm (lampiran E). Hasil analisis kandungan total polifenol asam galat dibuat kurva kalibrasi standar yang menghasilkan persamaan $y = 0,004x + 0,086$ ($R^2 = 0,980$). Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kandungan total polifenol sampel setelah dilakukan pengukuran terhadap absorbansi sampel ekstrak daun kenitu. Hasil analisis kandungan total polifenol ekstrak daun kenitu berbagai varian diberikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil analisis kandungan total polifenol rata-rata (n = 3) terhadap ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian

Ekstrak	Kandungan total polifenol (mg GAE/g ekstrak) (rata-rata ± SD)
BB	150,073 ± 0,335 ^a
HL	190,132 ± 0,457 ^b
U	47,533 ± 0,493 ^c
BK	152,339 ± 1,660 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan menggunakan uji post hoc ($p < 0,05$)

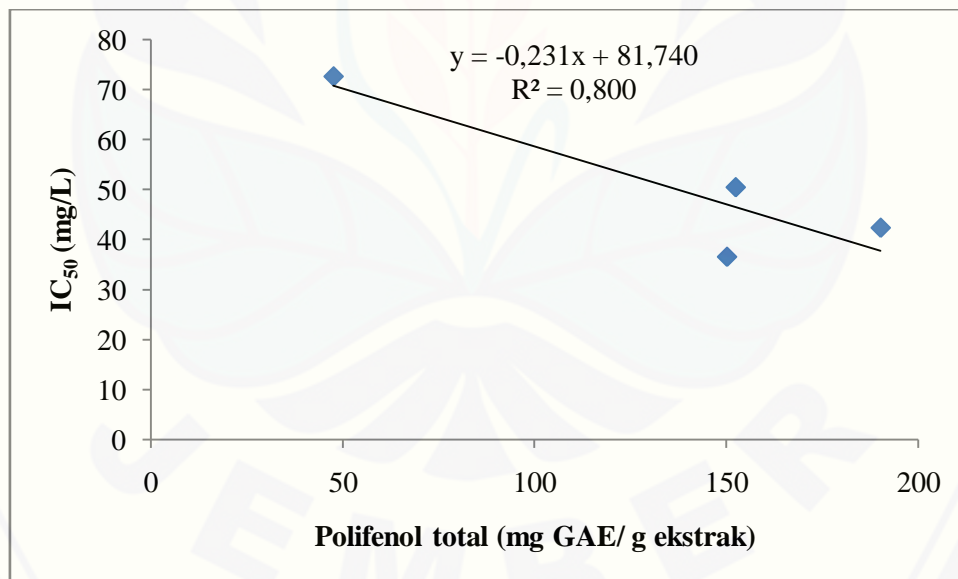
Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa kandungan total polifenol tertinggi dihasilkan oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu hijau lonjong. Dengan kandungan total polifenol rata-rata tertinggi sebesar 190,132 mg GAE/g ekstrak. Hal ini dapat dilihat pada perubahan warna dari warna kuning menjadi warna biru, dengan perbedaan warna yang semakin pekat dibanding dengan ekstrak daun kenitu varian lainnya. Selanjutnya secara berturut-turut kadar total polifenol daun kenitu bulat kecil, bulat besar dan ungu adalah 152,339 mg/g; 150,073 mg/g; dan 47,533 mg/g ekuivalen asam galat.

Kadar total polifenol metode Folin-Ciocalteu dalam ekstrak etanol 70% daun kenitu menunjukkan bahwa daun kenitu hijau lonjong secara signifikan ($p < 0,05$) lebih tinggi dibanding daun kenitu varian lain. Sedangkan kadar total polifenol daun kenitu bulat besar dan bulat kecil tidak berbeda signifikan. Hasil pengujian total polifenol ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang memaparkan bahwa total polifenol suatu tumbuhan dipengaruhi oleh jenis varietas tumbuhan. Shian *et al.* (2012) melaporkan bahwa ketiga varietas pisang (Beragan, Mas dan Raja) mengandung total polifenol berbeda nyata. Hal serupa diungkap pula oleh Ariviani *et al.* (2013) yang meneliti tiga varietas salak, yaitu Pondoh, Nglumut, dan Bali menemukan bahwa kandungan total polifenol pada ketiga varietas tersebut berbeda nyata, yaitu $4,60 \pm 1,10$ mg GAE/kg untuk salak pondoh, $6,09 \pm 0,68$ mg GAE/kg untuk salak Nglumut, dan $6,43 \pm 1,21$ mg GAE/kg untuk salak Bali. Pengaruh jenis varietas terhadap kandungan total polifenol juga ditemukan pada tanaman lain, seperti

pada beberapa varietas blueberry dari Brazil (Rodrigues *et al.*, 2011) dan pada 19 varietas buah apel (Matthes *et al.*, 2008).

Mengingat pengambilan sampel dilakukan di daerah yang berbeda, dimungkinkan perbedaan distribusi kadar senyawa bioaktif (polifenol, flavonoid) dan aktivitas antioksidan disebabkan oleh kondisi lingkungan tempat tumbuh. Kondisi lingkungan yang mempengaruhi kadar senyawa bioaktif di antaranya intensitas radiasi matahari, ketersediaan CO₂, sirkulasi udara tanah, ketersediaan air tanah, suhu dan kandungan zat hara lain dalam tanah (Jumin, 1989; Lakitan, 2012). Solichatun (2005) melaporkan bahwa ketersediaan air yang berbeda akan menghasilkan kadar senyawa bioaktif yang berbeda pula.

Besarnya kandungan polifenol total masing-masing sampel yang telah diperoleh dikorelasikan terhadap nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi linier untuk mengetahui korelasi keduanya. Berdasarkan hasil korelasi diperoleh persamaan regresi linier seperti pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Korelasi linier polifenol total (x) dengan aktivitas antioksidan IC₅₀ (y) berbagai varian daun kenitu

Berdasarkan hasil regresi linier polifenol total terhadap aktivitas antioksidan berbagai varian daun kenitu diperoleh persamaan $y = -0,231x + 81,740$ dengan nilai

R^2 sebesar 0,800 . Hal ini menunjukkan bahwa 80% aktivitas antioksidan dari berbagai varian ekstrak daun kenitu karena kontribusi kehadiran senyawa polifenol. Selain polifenol aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh metabolit sekunder lain yang bersifat antioksidan seperti minyak atsiri, karotenoid dan vitamin, sehingga 20% aktivitas antioksidan ekstrak daun kenitu berbagai varian dipengaruhi kehadiran senyawa selain polifenol (Javanmardi *et al.*, 2003).

4.3.4 Kandungan Total Flavonoid

Analisis total flavonoid dilakukan untuk mengetahui kandungan total flavonoid daun kenitu. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol dan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas karena mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para terhadap gugus $-OH$ dan $-OR$ (Harbone, 1996 dan Fessenden, 1986). Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada daun, buah dan akar (Sirait, 2007).

Kandungan total flavonoid ditentukan dengan metode Ordonez dan kuerstin sebagai standar. Analisis kandungan total flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 429 nm (lampiran F). Hasil analisis kandungan total flavonoid kuerstin dibuat kurva kalibrasi standar yang menghasilkan persamaan $y = 0,023x + 0,117$ ($R^2 = 0,996$). Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kandungan total flavonoid sampel setelah dilakukan pengukuran terhadap absorbansi sampel ekstrak daun kenitu. Hasil analisis kandungan total flavonoid ekstrak daun kenitu berbagai varian diberikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil analisis kandungan total flavonoid rata-rata (n = 3) terhadap ekstrak etanol 70% daun kenitu berbagai varian

Sampel	Kandungan total flavonoid (mg QE/g ekstrak) (rata-rata ± SD)
BB	14,039 ± 0,030 ^a
HL	11,116 ± 0,176 ^b
U	8,623 ± 0,105 ^c
BK	10,643 ± 0,109 ^d

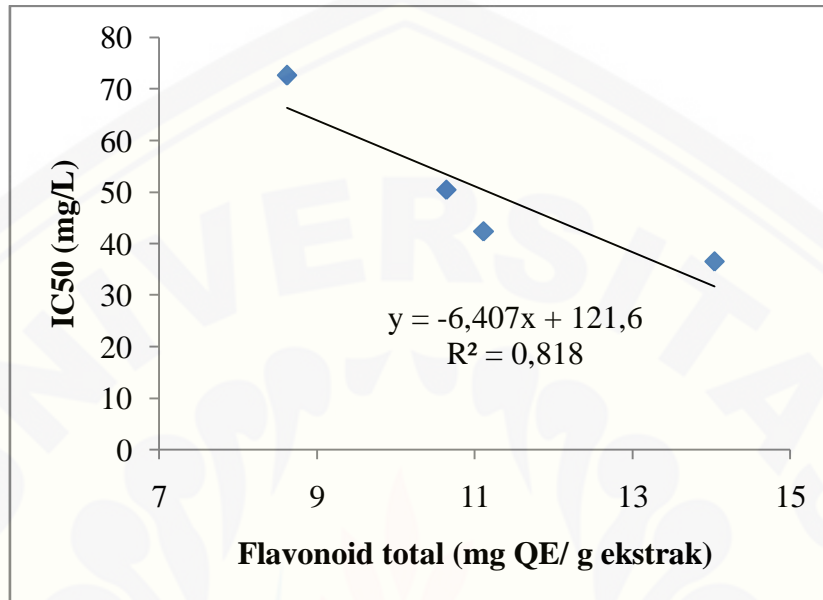
Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan menggunakan uji post hoc ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa kandungan total flavonoid daun kenitu bulat besar paling tinggi dibandingkan dengan kandungan total flavonoid daun kenitu varian lain. Dengan kandungan total flavonoid rata-rata tertinggi sebesar 14,039 mg QE/g ekstrak. Hasil uji statistik dengan metode ANOVA satu arah memberikan nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa kandungan total flavonoid daun kenitu pada masing-masing varian memiliki perbedaan yang signifikan. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Shian *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa perbedaan jenis varietas pada tanaman dapat mempengaruhi kandungan total polifenol, flavonoid dan aktivitas antioksidan.

Perbedaan kadar dan distribusi flavonoid selain dipengaruhi oleh jenis varietas, mungkin dipengaruhi juga oleh kondisi lingkungan tempat tumbuh. Kondisi lingkungan yang mempengaruhi kadar senyawa bioaktif diantaranya intensitas radiasi matahari, ketersediaan CO₂, sirkulasi udara tanah, ketersediaan air tanah, suhu dan kandungan zat hara lain dalam tanah (Jumin, 1989; Lakitan, 2012). Solichatun (2005) melaporkan bahwa ketersediaan air yang berbeda akan menghasilkan kadar senyawa bioaktif yang berbeda pula. Selain itu, Malnikova *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa perbedaan tempat tumbuh akan mempengaruhi kandungan flavonoid dalam *Fragaria vesca*.

Besarnya kandungan flavonoid total masing-masing sampel yang telah diperoleh dikorelasikan terhadap nilai IC₅₀ dengan menggunakan persamaan regresi

linier untuk mengetahui korelasi keduanya. Berdasarkan hasil korelasi diperoleh persamaan regresi linier seperti pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Korelasi linear flavonoid total (x) dengan aktivitas antioksidan IC_{50} (y) berbagai varian daun kenitu

Berdasarkan hasil regresi linier flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan berbagai varian daun kenitu diperoleh persamaan $y = -6,407x + 121,6$ dengan nilai R^2 sebesar 0,818. Hal ini menunjukkan bahwa 81,8% aktivitas antioksidan dari berbagai varian ekstrak daun kenitu karena kontribusi kehadiran senyawa flavonoid. Selain flavonoid aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh metabolit sekunder lain yang bersifat antioksidan seperti minyak atsiri, karotenoid dan vitamin, sehingga 19,2% aktivitas antioksidan ekstrak daun kenitu berbagai varian dipengaruhi kehadiran senyawa selain flavonoid (Javanmardi *et al.*, 2003).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data penelitian yang telah diperoleh, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Etanol 70% merupakan pelarut terpilih untuk mengekstraksi senyawa antioksidan daun kenitu BB, HL, U, BK.
2. Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan ekstrak daun kenitu bulat besar memiliki potensi sebagai antioksidan terbaik dibanding ekstrak daun kenitu HL, U, dan BK. Terdapat perbedaan signifikan terhadap kadar total polifenol dan total flavonoid ekstrak etanol 70% berbagai varian daun kenitu.
3. Korelasi kadar polifenol total dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan daun kenitu diketahui bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh kontribusi polifenol total 80% dan flavonoid total 81,8%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan pemisahan dan pemurnian untuk mengetahui jenis bioaktif yang terkandung secara spesifik. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai macam uji bioaktivitas terhadap daun kenitu, seperti uji aktivitas antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S. S. 1992. *Teknik Kimia Organik*. Bogor: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Addai, Z.R., Abdullah, A., & Mutalib, A. 2013. Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. *JMPR*. 7 (47): 3354-3359.
- Al-Lawi, M.U.S. 2011. Kapasitas Antioksidan dan Stabilitas Ekstrak Pigmen Antosianin Kulit Kacang Gude Hitam (*Cajanus cajan* L.) dengan Variasi Pelarut. Digilib UNS [serial on line]. <http://perpustakaanuns/antioksidanvariasipelarut/index.html>. [30 April 2015].
- Anwar, F., Kalsoom, U., Sultana, B., Mustaq, M., Mehmood, T., & Arshad, H.A. 2013. Effect of drying method and extraction solvent on the total phenolics and antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) extracts. *IFRJ*. 20 (2): 653-659.
- Ariviani, S., & Parnanto, N.H.R. 2013. Kapasitas Antioksidan Buah salak (*Salacca edulis* REINW) Kultivar Pondoh, Nglumut dan Bali serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik Total dan Vitamin C. *J. Agritech*. 33 (3): 324-333.
- Arnelia. 2002. *Fitokimia, Komponen Ajaib Cegah PJK, Diabetes Mellitus dan Kanker*. <http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.cgi>. artikel [diakses tanggal 23 Agustus 2014].
- Hidayat, M. A., Umiyah, & Ulfa, E. U. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. *Berk. Penel. Hayati*. 13: 45-50.
- Bajcan, D., Harangozo, L., Hrabovska, D., & Boncikova, D. 2013. Optimizing Conditions for Spectrophotometric Determination of Total Polyphenols on Wines Using Folin-Ciocalteu Reagent. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci*. 2 (1): 1699-1708.
- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comp. Rev. Food Scie. Food Saf*. 10: 221-247.

- Chivde, B.V., Biradar, K.V., Shiramane, R.S., Manoj, K.V. 2011. In-Vitro Antioxidant Activity Studies on the Flowers of *Tagetes Erecta* L. (Compositae). *IJPBS*. 2 (3): 223-229.
- Dahlan, M.S. 2006. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Garut: Arkans.
- Darusman, L.K., Sajuthi D., Sutriah, K., & Pamungkas, D. 1995. “*Ekstraksi Komponen Bioaktif sebagai bahan Obat dari Karang-karangan, Bunga Karang, dan Ganggang di Perairan K. Pari Kepulauan Seribu*”. Laporan Penelitian. Bogor: FMIPA, IPB.
- Das, A., Dato I.R., Badaruddin, B.N., Amiya, B. 2010. A Brief Review on *Chrysophyllum cainito*. *IJPI's Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations*. 1 (1): 1-7.
- Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 7: 57-62.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Einbond, L.S., Kurt A.R., Xiao, D.L., Margaret, J.B., Edward, J.K. 2004. Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits. *Food Chemistry*. 84: 23-28.
- Evans, W.C. 2002. *Production of Crude Drugs*, in : Evans WC., Trease and Evans Pharmacognosy, 15th ed., Elsevier Science Limited. Part 3 (9): 61-66
- Gholib, I.G., & Rahman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan IV. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gordon, M.H. 1990. The Mechanism of Antioxidants Action In-Vitro. dalam: Hudson B.J.F., ed. Food antioxidants. *Elsevier Applied Science*, London.
- Halliwell, Barry. 2001. “Free Radicals and Other Reactive Species in Disease”. *Encyclopedia of Life Sciences*. Singapore : Nature Publishing Group.
- Halliwell, Barry. 2007. Biochemistry of Oxidative Stress. *Biochemical Society*. 35 (5): 1147-1150.
- Halliwell, Barry. 2012. Free Radicals and Antioxidants: Updating a Personal View. *Nutrition Reviews*. 70 (5): 257-265.
- Harborne, J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan II. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. 1987. Bandung: ITB-Press.

- Hasmida, M.N., Syukriah, N.A.R., Liza, M.S., Azizi, M.C.Y. 2014. Effect of different extraction techniques on total phenolic content and antioxidant activity of *Quercus infectoria* galls. *IFRJ*. 21 (3): 1075-1079.
- Houghton P.J. & Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extract: Methods of Extraction and Sample Clean-up*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Javanmardi, J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian Ocimum accessions. *J. Food Chemistry*. 83: 574-550.
- Jumin, Hasan B. 1989. *Ekologi Tanaman: Suatu Pendekatan Fisiologis*. Jakarta: Rajawali Pres.
- Koffi, N., Amoikon K.E., Tiebre M.S., Kadja B., Zirihi, G.N. 2009. Effect of aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on the Glycaemia of Diabetic Rabbits. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. 3 (10): 501-506.
- Lakitan, Benyamin. 2012. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Rajawali Pres.
- Lautan, J. 1997. Radikal Bebas pada Eritrosit dan Leukosit. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. 116 : 49-52.
- Luo, X.D., Basile M.J., & Kennely E.J., 2002. Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple), *J. Agric. Food Chem*. 50(6): 1379–1382.
- Makhlouf, L.B., Medounia, L., Adrar, S.M., Arkoub, L., Madani, K. 2013. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *J. Elsevier*. 49 (1): 668-674.
- Malnikova, E., Kukla, J., Kuklova, M., & Balazova, M. 2013. “Altitudinal Variation of Plant Traits: Morphological Characteristics in *Fragaria Vesca* L. (Rosaceae).” *Annals of Forest Research*. 56 (1): 79–89.
- Matthes, A., & Elberger, M.S. 2008. Polyphenol content and antioxidant capacity of apple fruit: effect of cultivar and storage conditions. *J. of Applied Botany and Food Quality*. 82 (1): 152 – 157.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenyl picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioksidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*. 26 (2): 211-219.

- Morton, J. 1987. Star Apple. in: Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408–410.
- Musa, K.H., Abdullah, A., Jusoh, K., Subramaniam, V. 2009. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava* L.): Effect of Extraction Techniques and Solvents. *J. Food Anal. Methods*. 39 (3): 1007-1014.
- Ncube, N.S., Afolayan, A.J., & Okoh, A.I. 2008. Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: Current Methods and Future Trends. *Afr. J. Biotechnol.* 7 (2): 1797-1806.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: P.T. Rineka Cipta.
- Ordenez, A.A., Gomez, J.G, Vattuone, M.A., & Isla, M.I.2006. Antioxidant Activities of *Sechium edulesvuart* Extract. *Food Chemistry* 97:452-458.
- Orwa C, Mutua A , Kindt R , Jamnadass R, & Simons A. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. [diakses tanggal 15 Agustus 2014].
- Putra, F.R., Afrizal, & Mai E. 2013. Isolasi Triterpenoid dan Uji Antioksidan dari Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*). *J. Kimia Unand*. 2(1): 54-58.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB.
- Rodrigues, E., Poerner, N., Rockenbach, I.I., Gonzaga, L.V., Mendes, C.R., Fett, R. 2011. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Blueberry Cultivars Grown in Brazil. *J. Cienc. Tecnol. Aliment*. 31 (4): 911-917.
- Rowe, R.C., Sheskey P.J., and Quinn M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition*. UK: RPS Publishing.
- Shian, T.E., Abdullah, A., Musa, K.H., Maskat, M.Y., Ghani, M.A. 2012. Antioxidant Properties of Three Banana Cultivars (*Musa acuminata* Beragan, Mas and Raja) Extracts. *Sains Malaysia*. 41 (3): 319-324.
- Sholihah, Q. & Widodo, M. A. 2008. Pembentukan Radikal Bebas Akibat Gangguan Ritme Sirkadian dan Paparan Debu Batubara. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 4(2): 89-100.
- Sies, H. 1993. Strategies of Antioxidant Defense. *Eur. J. Biochem*. 2 (15): 213-219.
- Sirait, Midian. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : ITB.

- Solichatun, Anggarwulan, E., Mudyantini, W. 2005. Pengaruh Ketersediaan Air terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Bahan Aktif Saponin Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). *J. Biofarmasi*. 3(2) : 47-51.
- Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *J. Molucules*. 14 (1): 2167-2180.
- USDA. 2003. URL: www.plants.usda.gov. [diakses tanggal 22 Agustus 2014]
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R., & Siahaan, M. 2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Berbagai Tanaman. *JKM*. 5 (1): 33-48.
- Wijaya, A. 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum, *Prodia Diagnostic Educational Services*. 1 : 1-12.
- Wolve, K., Wu, X., Liu, R.H. 2003. Antioxidant activity of Apple peels. *J. Agric. Food Chem*. 51 (1): 609-614.
- Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. 2004. Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro. *J. Agric. Food Chem*. 52: 5032-5039.
- Zuhud. 2011. *Antioksidan Nabati Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta: Penebar Swadaya.

LAMPIRAN A
PERHITUNGAN

1. % Bobot rendemen ekstrak daun kenitu

$$\% \text{ Bobot rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \%$$

$$\text{Ekstrak (BB)} = \frac{12,68 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 12,68 \%$$

$$\text{Ekstrak (HL)} = \frac{14,61 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 14,61 \%$$

$$\text{Ekstrak (U)} = \frac{7,05 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 7,05 \%$$

$$\text{Ekstrak (BK)} = \frac{11,05 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 11,05 \%$$

Keterrangan :

Ekstrak (BB) = Ekstrak daun kenitu bulat besar

Ekstrak (HL) = Ekstrak daun kenitu hijau lonjong

Ekstrak (U) = Ekstrak daun kenitu ungu

Ekstrak (BK) = Ekstrak daun kenitu bulat kecil

2. Perhitungan konsentrasi DPPH

$$\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 0,02 \%$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 0,02 \% = 0,004 \%$$

3. Perhitungan konsentrasi larutan standar

Standar asam galat (3 kali replikasi)

$$\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 500 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

$$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 8 \text{ ppm}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 20 \text{ ppm} = 6 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 8 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4 \text{ ppm} = 2 \text{ ppm}$$

4. Perhitungan konsentrasi larutan uji dari 4 varian daun kenitu

Ekstrak (3 kali replikasi)

$$\frac{100 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 4.000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4.000 \text{ ppm} = 400 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{1,75 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 70 \text{ ppm}$$

$$\frac{1,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{1,25 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,75 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 30 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,25 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 400 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

5. Perhitungan uji aktivitas antioksidan

Rumus:

$$\% \text{ peredaman DPPH} = \left(\frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Larutan Uji}}{\text{Abs Kontrol}} \right) \times 100 \%$$

Keterangan : Abs Kontrol = Absorbansi DPPH 0,004% sebanyak 1,5 mL

Abs Larutan Uji = Absorbansi DPPH 0,004% sebanyak 1,2 mL ditambah 0,3 mL sampel

Catatan : Absorbansi di ukur pada λ maksimum

Contoh perhitungan :

$$\% \text{ peredaman DPPH} = \left(\frac{1,103 - 0,809}{1,103} \right) \times 100 \% = 26,655$$

Setelah diperoleh persentase peredaman DPPH dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = bx + a$ dengan perhitungan secara regresi linier dimana x adalah konsentrasi (mg/L) dan y adalah persentase peredaman DPPH (%). Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

Contoh perhitungan:

$$y = 4,903x + 26,22$$

$$50 = 4,903x + 26,22$$

$$x = 4,850 \text{ mg/L}$$

6. Pembuatan larutan folin

1 ml Folin diencerkan dengan aquades ad 10 ml

7. Pembuatan larutan Na_2CO_3 7,5 %

750 mg Na_2CO_3 dilarutkan dalam aquades ad 10 ml

8. Uji total polifenol (Wolfe *et al.*, 2003)

Larutan uji 0,5 ml ditambah 5 ml reagen Folin, didiamkan selama 5 menit Campuran tadi ditambah 4 ml Na_2CO_3 (75 g/l air), didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 751 nm dengan spektrofotometer UV Vis.

Penelitian:

Volum larutan total yang dikehendaki dalam kuvet 1,9 ml, maka dilakukan pemipetan sebagai berikut:

$$\text{Ekstrak/standar} = \frac{0,5 \text{ ml}}{9,5 \text{ ml}} \times 1,9 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

$$\text{Folin} = \frac{5 \text{ ml}}{9,5 \text{ ml}} \times 1,9 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Na}_2\text{CO}_3 = \frac{4 \text{ ml}}{9,5 \text{ ml}} \times 1,9 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

9. Pembuatan larutan standar asam galat (3 kali replikasi)

$$\frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm}$$

$$\frac{8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 250 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{7,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 150 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

10. Pembuatan ekstrak uji

Ekstrak (U) (3 kali replikasi)

$$\frac{100 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 4.000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ ml}} \times 4000 \text{ ppm} = 800 \text{ ppm}$$

Ekstrak (BB, HL, BK) (3 kali replikasi)

$$\frac{100 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ rpm} = 4000 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,75 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 600 \text{ ppm}$$

11. Pembuatan blangko negatif

0,1 ml etanol p.a, ditambahkan 1 ml reagen Folin dan 0,8 ml Na_2CO_3 7,5 %

12. Pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 751 nm

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi λ 751 nm			Absorbansi Rata-rata	SD
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Asam Galat	50	0,292	0,290	0,285	0,289	0,004
	100	0,585	0,580	0,587	0,584	0,004
	150	0,740	0,739	0,754	0,744	0,008
	200	0,916	0,898	0,897	0,904	0,011
	250	1,231	1,231	1,242	1,238	0,006
BB	600	0,769	0,770	0,772	0,770	0,002
HL	600	0,952	0,956	0,953	0,954	0,002
U	800	0,372	0,378	0,375	0,375	0,003
BK	600	0,772	0,784	0,786	0,781	0,008

Persamaan kurva standar yang diperoleh, yaitu $y = 0,004x + 0,086$ ($R^2 = 0,980$). Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan nilai x atau kandungan total polifenol larutan sampel daun kenitu ekivalen asam galat dengan memasukkan nilai absorbansi sampel daun kenitu ke y. Berikut contoh perhitungannya :

$$y = 0,004x + 0,086$$

$$0,769 = 0,004x + 0,086$$

$$x = 170,75 \mu\text{g GAE/ ml larutan residu}$$

kemudian dapat ditentukan kandungan total polifenol per berat ekstrak kental daun kenitu dengan cara sebagai berikut:

0,1 gram ekstrak ditambah etanol sampai 25 mL (larutan induk 1)



Diencerkan dengan memipet larutan induk 1 sebanyak 0,75 mL dan ditambah etanol sampai 5 mL (Larutan induk 2)



Diencerkan dengan memipet larutan induk 2 sebanyak 0,1 mL dan ditambah reagen sampai 1,9 mL (Sampel yang dianalisis)



Misalkan hasil analisis diperoleh kadar total polifenol (nilai x) = 170,75 µg GAE/ ml larutan residu, maka kadar total polifenol tiap gram ekstrak adalah:

a) Kadar total polifenol dalam kuvet

$$0,1 \text{ ml}/1,9 \text{ ml} \times 170,75 \text{ µg GAE/ ml} = 9 \text{ µg GAE/ ml}$$

b) Kadar total polifenol dalam larutan induk 2

$$5 \text{ ml}/0,1 \text{ ml} \times 9 \text{ µg GAE/ ml} = 450 \text{ µg GAE/ ml}$$

c) Kadar total polifenol dalam larutan induk 1

$$25 \text{ ml}/0,75 \text{ ml} \times 450 \text{ µg GAE/ ml} = 15.000 \text{ µg GAE/ ml}$$

d) Kadar total polifenol tiap gram ekstrak

$$(15.000 \text{ µg GAE/ ml} : 0,1 \text{ gram ekstrak})/ 1000 = 150 \text{ mg GAE/ g ekstrak}$$

13. Perhitungan Simpangan Deviasi

$$SD = \sqrt{\frac{(a - x)^2 + (b - x)^2 + \dots}{n-1}}$$

Keterangan: a, b = kadar total polifenol daun kenitu

x = kadar rata-rata total polifenol daun kenitu

n = Banyaknya data

Contoh:

$$SD = \sqrt{\frac{(284,583 - 285,139)^2 + (285 - 285,139)^2 + (285,833 - 285,139)^2}{3-1}}$$

$$= 0,636$$

14. Pembuatan larutan AlCl₃ 2 %

500 mg AlCl₃ dilarutkan dalam etanol ad 25 ml

15. Uji total flavonoid (Ordenez *et al.*, 2006)

Larutan uji 0,5 ml ditambah 0,5 ml larutan AlCl₃ 2 %, didiamkan selama 60 menit dan diamati pada panjang gelombang 429 nm dengan spektrofotometer UV Vis.

Penelitian:

Volum larutan total yang dikehendaki dalam kuvet 1,5 ml, maka dilakukan pemipetan sebagai berikut:

$$\text{Ekstrak/standar} = \frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1,5 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml}$$

$$\text{AlCl}_3 = \frac{0,5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 1,5 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml}$$

16. Pembuatan larutan standar kuersetin (3 kali replikasi)

$$\frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\frac{8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

$$\frac{6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 80 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 40 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm}$$

17. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak (BB, HL, U, BK) (3 kali replikasi)

$$\frac{100 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 2000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

18. Pembuatan Blangko Negatif

0,5 ml etanol, ditambahkan 0,5 ml AlCl_3

Tabel A.1 Hasil pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 429 nm

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi λ 751 nm			Absorbansi Rata-rata	SD
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Kuersetin	20	0,613	0,615	0,624	0,617	0,006
	40	1,002	1,023	1,026	1,017	0,013
	60	1,591	1,565	1,565	1,574	0,015
	80	2,002	2,020	2,026	2,016	0,012
	100	2,235	2,258	2,281	2,258	0,023
BB	1000	1,084	1,088	1,085	1,086	0,002
HL	1000	0,878	0,876	0,898	0,884	0,012
U	1000	0,718	0,714	0,704	0,712	0,007
BK	1000	0,851	0,844	0,859	0,851	0,008

Persamaan kurva standar yang diperoleh, yaitu $y = 0,021x + 0,212$ ($R^2 =$

0,985). Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan nilai x atau kandungan total flavonoid larutan sampel daun kenitu ekivalen kuersetin dengan memasukkan nilai absorbansi sampel daun kenitu ke y. Berikut contoh perhitungannya :

$$y = 0,021x + 0,212$$

$$1,084 = 0,021x + 0,212$$

$$x = 41,524 \mu\text{g QE/ ml larutan residu}$$

kemudian dapat ditentukan kandungan total flavonoid per berat ekstrak kental daun kenitu dengan cara sebagai berikut:

0,1 gram ekstrak ditambah etanol sampai 25 mL (larutan induk 1)



Diencerkan dengan memipet larutan induk 1 sebanyak 2,5 mL dan ditambah etanol sampai 5 mL (Larutan induk 2)



Diencerkan dengan memipet larutan induk 2 sebanyak 0,75 mL dan ditambah reagen sampai 1,5 mL (Sampel yang dianalisis)



Misalkan hasil analisis diperoleh kadar total flavonoid (nilai x) = 42 $\mu\text{g QE/ ml}$ larutan residu, maka kadar total flavonoid tiap gram ekstrak adalah:

d) Kadar total flavonoid dalam kuvet

$$0,75 \text{ ml}/1,5 \text{ ml} \times 42 \text{ } \mu\text{g QE/ ml} = 21 \text{ } \mu\text{g QE/ ml}$$

e) Kadar total flavonoid dalam larutan induk 2

$$5 \text{ ml}/0,75 \text{ ml} \times 21 \text{ } \mu\text{g QE/ ml} = 140 \text{ } \mu\text{g QE/ ml}$$

f) Kadar total flavonoid dalam larutan induk 1

$$25 \text{ ml}/2,5 \text{ ml} \times 140 \text{ } \mu\text{g QE/ ml} = 1.400 \text{ } \mu\text{g QE/ ml}$$

d) Kadar total flavonoid tiap gram ekstrak

$$(1.4000 \text{ } \mu\text{g QE/ ml} : 0,1 \text{ gram ekstrak})/ 1000 = 14 \text{ mg QE/ g ekstrak}$$

19. Perhitungan Simpangan Deviasi

$$SD = \sqrt{\frac{(a - x)^2 + (b - x)^2 + \dots}{n-1}}$$

Keterangan: a, b = kadar total flavonoid daun kenitu

x = kadar rata-rata total p flavonoid daun kenitu

n = Banyaknya data

Contoh :

$$SD = \sqrt{\frac{(20,762 - 20,802)^2 + (20,857 - 20,802)^2 + (20,786 - 20,802)^2}{3-1}} = 0,050$$

LAMPIRAN B
SKRINING PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM DPPH

Tabel B.1 Absorbansi DPPH pada panjang gelombang 400-600 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	0,277
415	0,281
425	0,301
435	0,329
445	0,364
455	0,423
465	0,506
475	0,612
485	0,736
495	0,865
515	1,020
525	0,982
535	0,883
545	0,774
555	0,690
565	0,614
575	0,565
585	0,524
595	0,443
600	0,450

Tabel B.2 Absorbansi larutan ekstrak etanol daun kenitu ungu 80 ppm pada panjang gelombang 400-600 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	0,029
429	0,004
437	0,006
495	-0,002
515	-0,003
535	-0,005
575	0
583	0,013
600	-0.013

Tabel B.3 Absorbansi larutan ekstrak etanol daun kenitu hijau lonjong 80 ppm pada panjang gelombang 400-600 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	-0,015
407	-0,053
415	-0,052
420	-0,056
437	-0,053
495	-0,053
515	-0,051
535	-0,051
547	-0,051
584	-0,036
600	-0,05

Tabel B.4 Absorbansi larutan ekstrak etanol daun kenitu bulat besar 80 ppm pada panjang gelombang 400-600 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	0,037
428	-0,019
431	-0,018
495	-0,026
515	-0,026
523	-0,025
535	-0,027
566	-0,026
559	-0,027
583	-0,006
600	-0,031

Tabel B.5 Absorbansi larutan ekstrak etanol daun kenitu bulat kecil 80 ppm pada panjang gelombang 400-600 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
400	-0,020
495	-0,053
515	-0,050
520	-0,049
527	-0,048
535	-0,049
583	-0,026
600	-0,049

LAMPIRAN C

PENENTUAN WAKTU PENGUKURAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Tabel C.1 Absorbansi DPPH dari menit ke-5 hingga menit ke-60 setelah penambahan asam galat 5 ppm

Waktu (Menit)	Absorbansi λ 515 nm			Abs. Rata-Rata	SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
5	0,830	0,741	0,839	0,835	0,054
10	0,816	0,726	0,825	0,821	0,055
15	0,790	0,702	0,801	0,796	0,054
20	0,785	0,696	0,798	0,792	0,056
25	0,777	0,690	0,792	0,785	0,055
30	0,769	0,787	0,685	0,727	0,054
35	0,762	0,782	0,681	0,722	0,053
40	0,758	0,778	0,679	0,719	0,052
45	0,753	0,773	0,676	0,715	0,051
50	0,750	0,769	0,674	0,712	0,050
55	0,747	0,766	0,672	0,710	0,050
60	0,745	0,765	0,670	0,708	0,050

LAMPIRAN D

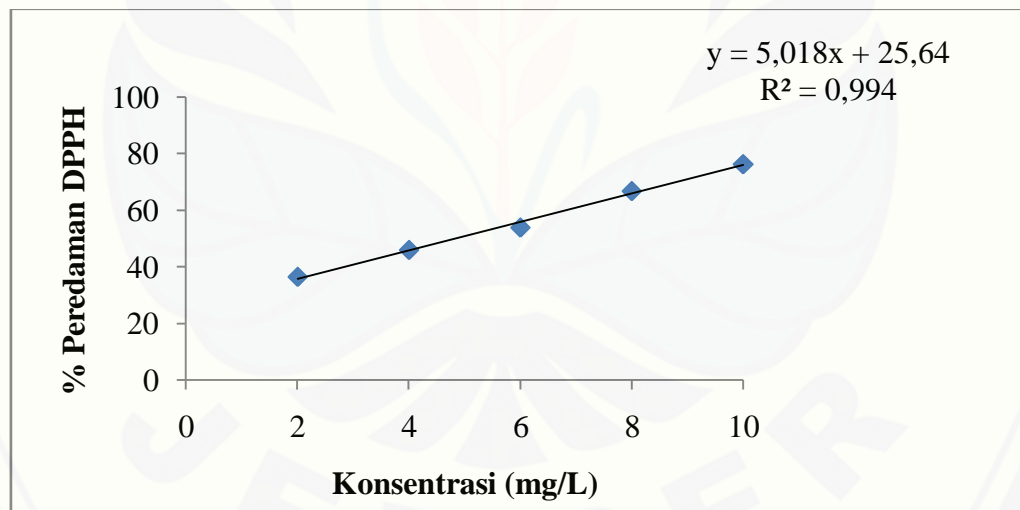
DATA PENENTUAN NILAI IC50 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

1. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASAM GALAT

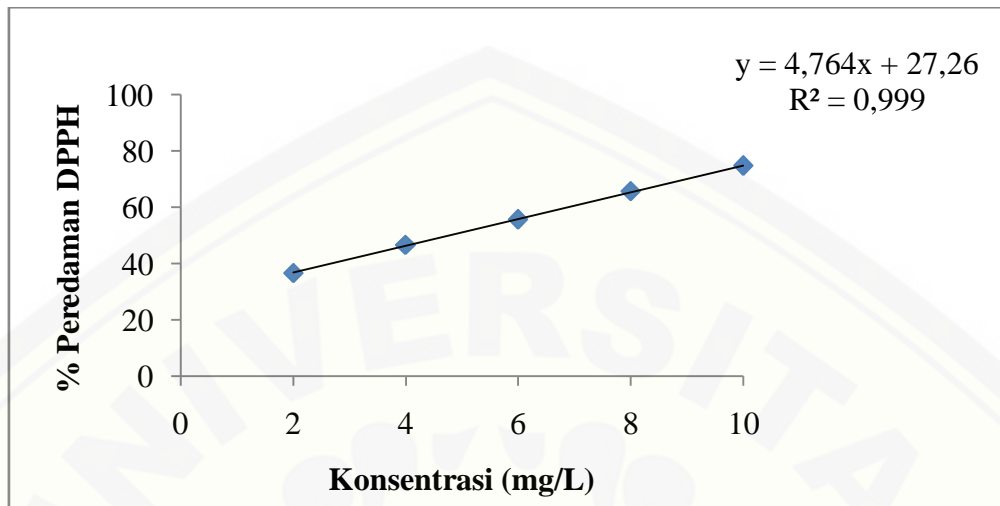
Tabel D.1 Persen peredaman DPPH oleh Asam Galat

Konsentrasi (mg/L)	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata \pm SD
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
2	36,347	36,624	35,332	36,101 \pm 0,680
4	45,849	46,587	46,033	46,156 \pm 0,384
6	53,782	55,627	54,889	54,766 \pm 0,929
8	66,697	65,683	65,406	65,929 \pm 0,680
10	76,107	74,723	74,908	75,246 \pm 0,751

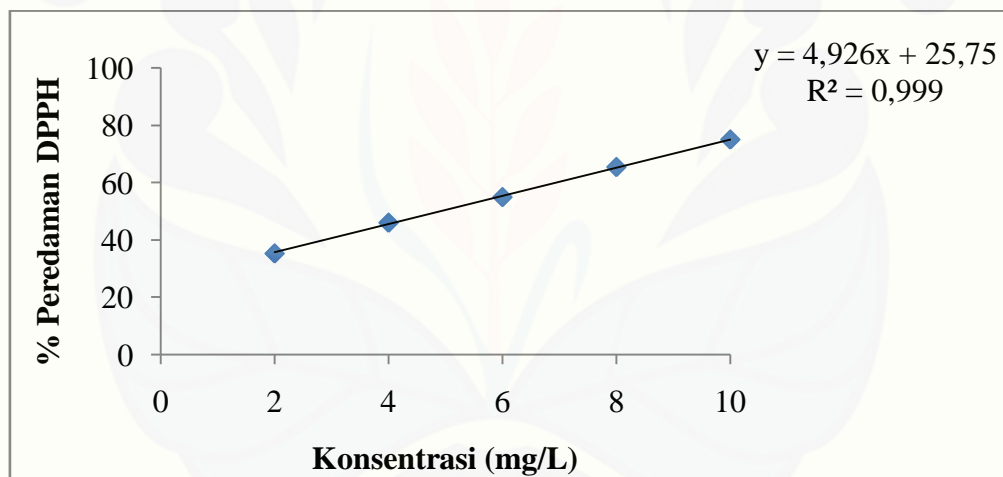
Kurva persen peredaman DPPH oleh Asam Galat



Gambar D.1 Kurva persen peredaman DPPH oleh Asam Galat replikasi 1



Gambar D.2 Kurva persen peredaman DPPH oleh Asam Galat replikasi 2



Gambar D.3 Kurva persen peredaman DPPH oleh Asam Galat replikasi 3

Tabel D.2 Nilai IC₅₀ Asam Galat

Sampel Asam Galat	IC ₅₀ (mg/L)
Replikasi 1	4,855
Replikasi 2	4,773
Replikasi 3	4,923
Rata-rata	4,850
SD	0,075

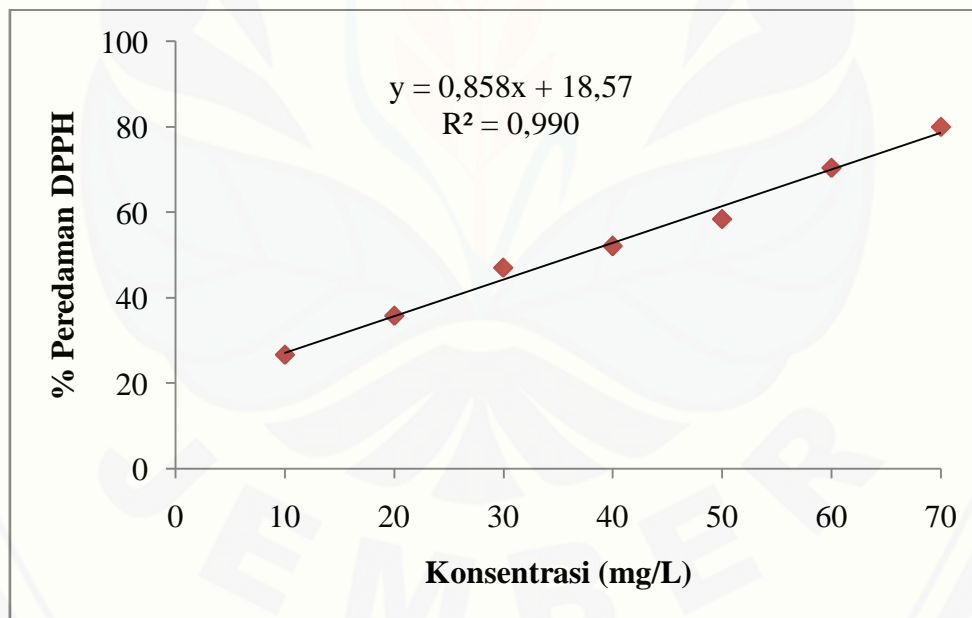
2. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KENITU SKALA BESAR

2.1 Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar (BB)

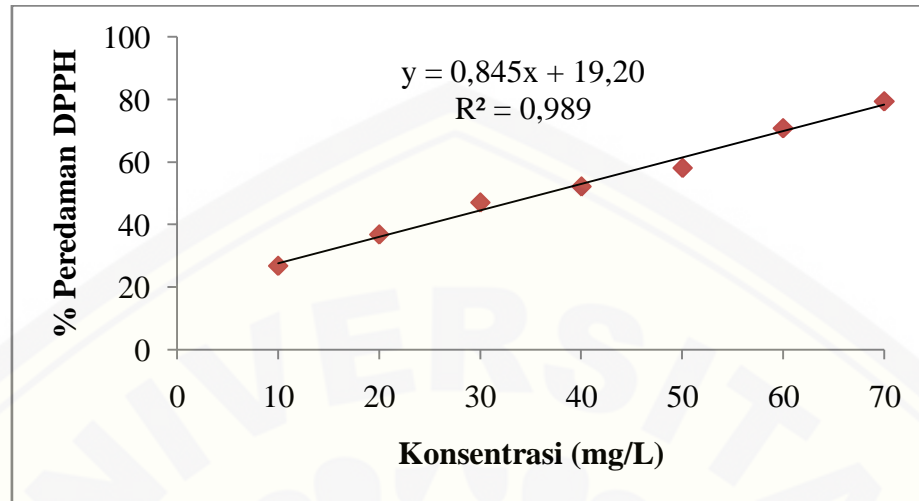
Tabel 2.1a Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar

Konsentrasi (mg/L)	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata \pm SD
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
10	26,443	26,745	25,929	26,443 \pm 0,447
20	35,856	36,847	36,036	36,246 \pm 0,528
30	47,038	47,127	48,205	47,457 \pm 0,649
40	52,047	52,138	52,229	52,138 \pm 0,091
50	58,426	58,148	57,685	58,086 \pm 0,374
60	70,360	70,822	71,099	70,760 \pm 0,373
70	79,946	79,320	80,036	79,767 \pm 0,390

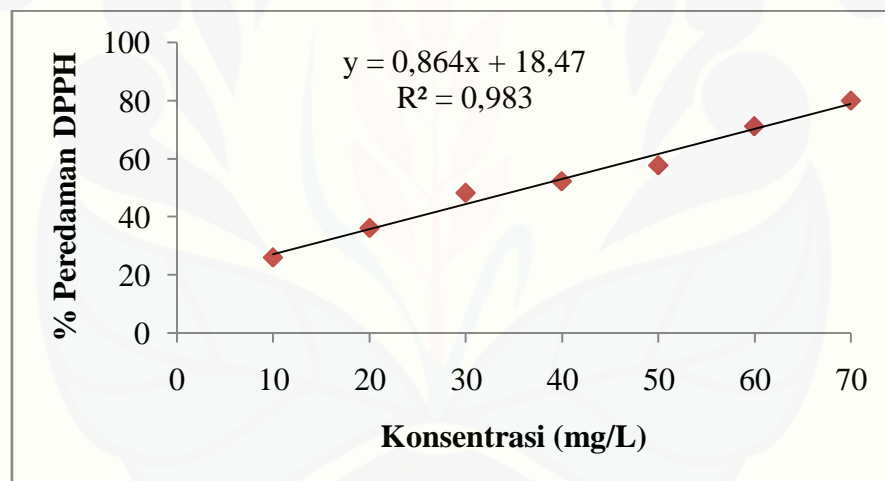
Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar



Gambar 2.1a Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar replikasi 1



Gambar 2.1b Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar replikasi 2



Gambar 2.1c Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat besar replikasi 3

Tabel 2.1b Nilai IC_{50} Daun Kenitu Bulat Besar (BB)

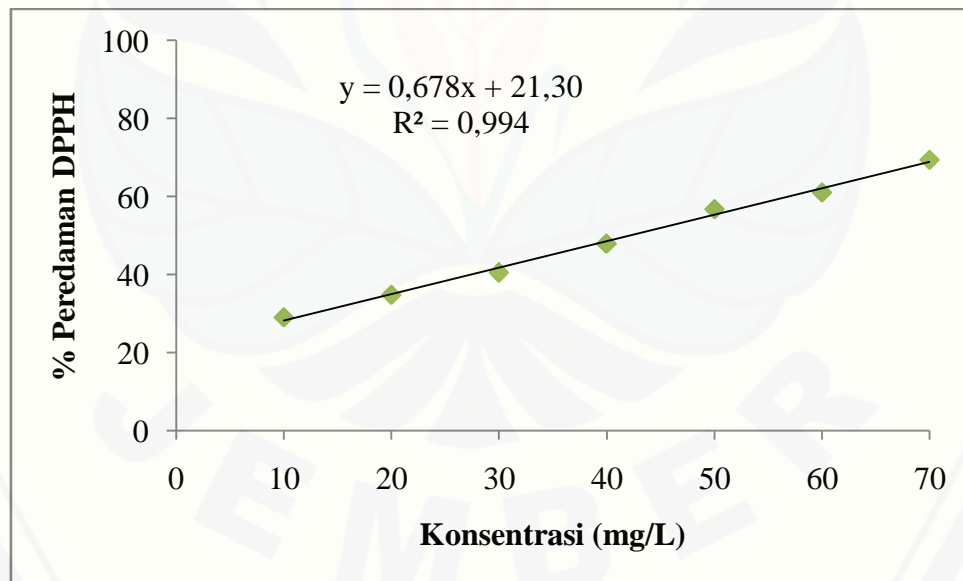
Sampel BB	IC_{50} (mg/L)
Replikasi 1	36,493
Replikasi 2	36,632
Replikasi 3	36,450
Rata-rata	36,525
SD	0,095

2.2 Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu hijau lonjong (HL)

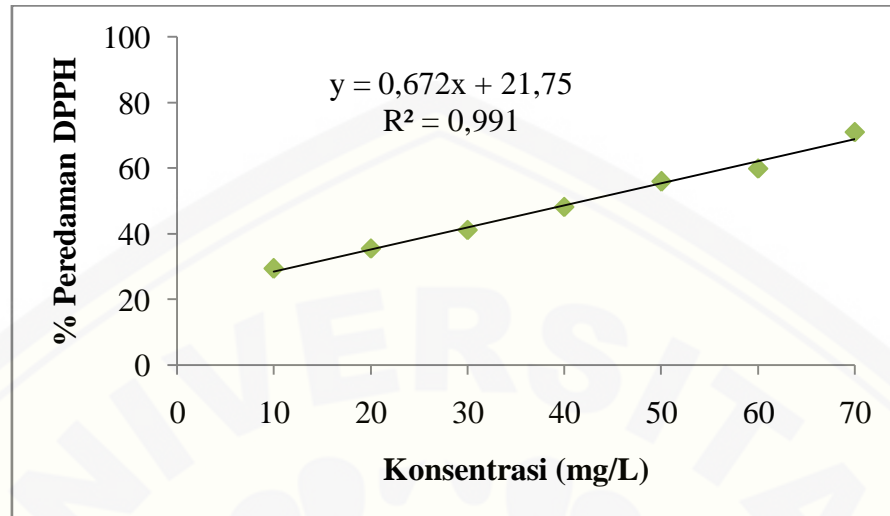
Tabel 2.2a Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu hijau lonjong (HL)

Konsentrasi (mg/L)	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata \pm SD
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
10	28,969	29,327	28,520	28,939 \pm 0,404
20	34,775	35,405	34,865	35,015 \pm 0,341
30	40,379	41,192	41,734	41,102 \pm 0,682
40	47,886	48,070	47,335	47,763 \pm 0,383
50	56,774	55,853	55,300	55,975 \pm 0,745
60	60,938	59,835	59,559	60,110 \pm 0,730
70	69,373	70,941	70,387	70,234 \pm 0,795

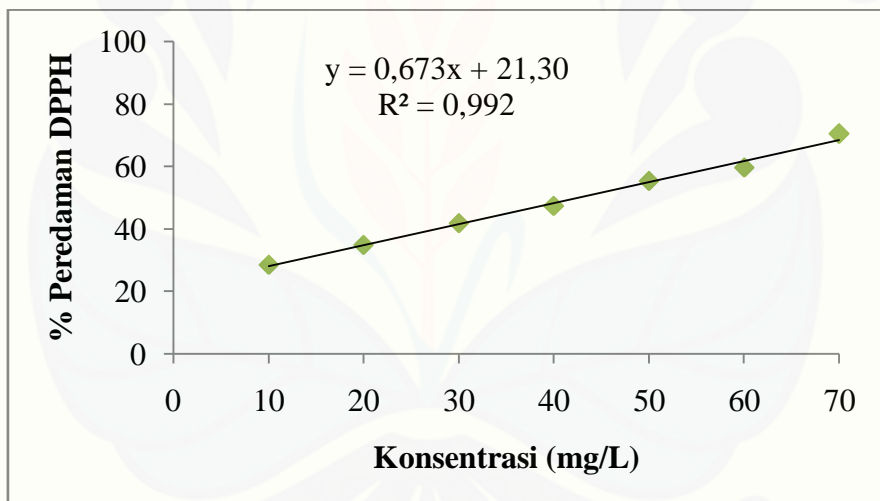
Kurva rata-rata persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu hijau lonjong (HL)



Gambar 2.2a Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu hijau lonjong replikasi 1



Gambar 2.2b Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenituhijau lonjong replikasi 2



Gambar 2.2c Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenituhijau lonjong replikasi 3

Tabel 2.2b Nilai IC_{50} Daun Kenituhijau Lonjong (HL)

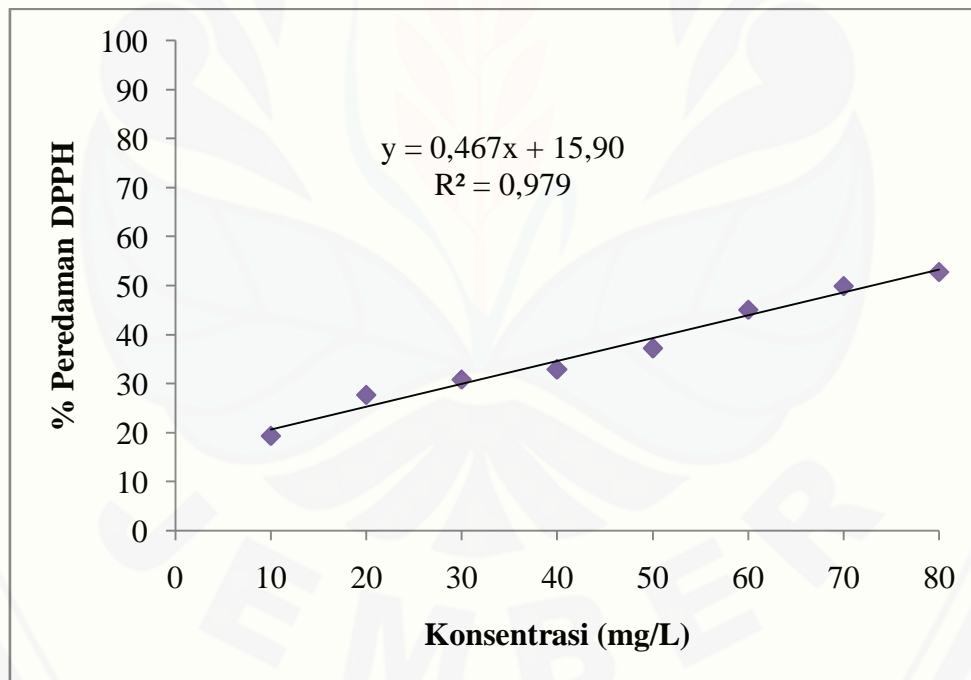
Sampel HL	IC_{50} (mg/L)
Replikasi 1	42,330
Replikasi 2	42,039
Replikasi 3	42,645
Rata-rata	42,338
SD	0,303

2.3 Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu ungu (U)

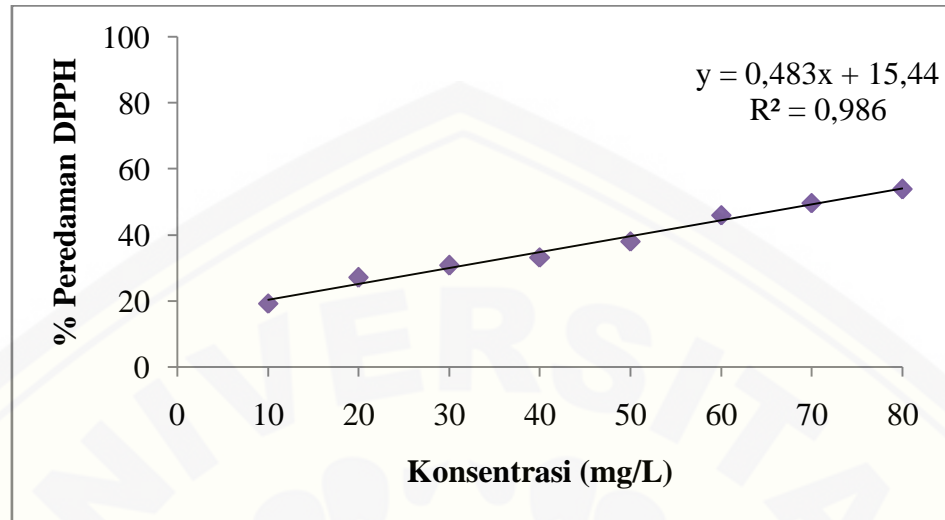
Tabel persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu ungu

Konsentrasi (mg/L)	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata \pm SD
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
10	19,284	19,185	18,688	19,052 \pm 0,320
20	27,634	27,038	27,734	27,469 \pm 0,376
30	30,823	30,723	31,417	30,988 \pm 0,375
40	32,839	33,136	31,949	32,641 \pm 0,618
50	37,151	38,048	37,550	37,583 \pm 0,449
60	45,098	45,882	45,588	45,523 \pm 0,396
70	49,854	49,660	49,174	49,563 \pm 0,350
80	52,743	53,802	52,454	53,000 \pm 0,709

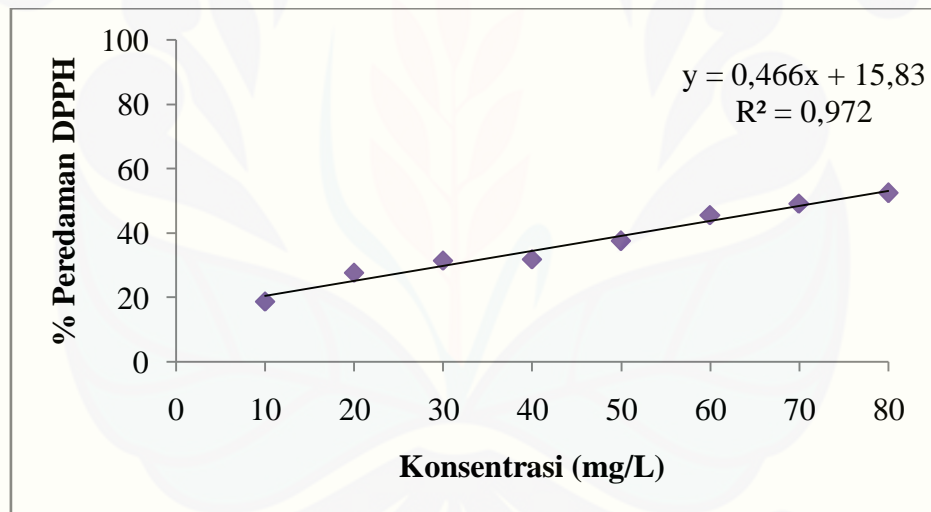
Kurva rata-rata persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu ungu



Gambar 2.3a Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu ungu replikasi 1



Gambar 2.3b Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenituan ungu replikasi 2



Gambar 2.3c Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenituan ungu replikasi 3

Tabel D.2 Nilai IC_{50} Daun Kenituan Ungu (U)

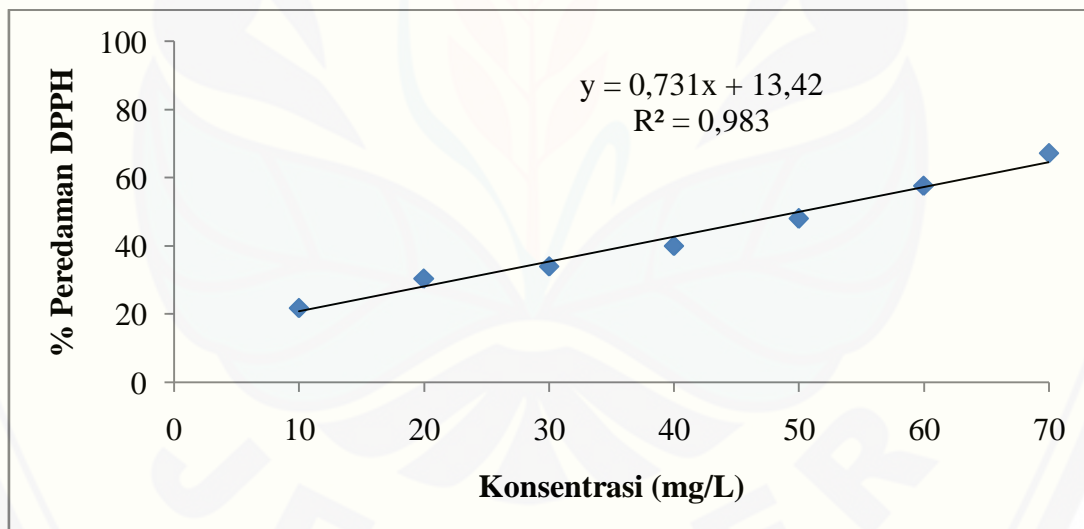
Sampel Ungu	IC_{50} (mg/L)
Replikasi 1	73,019
Replikasi 2	71,553
Replikasi 3	73,326
Rata-rata	72,326
SD	0,948

2.4 Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil (BK)

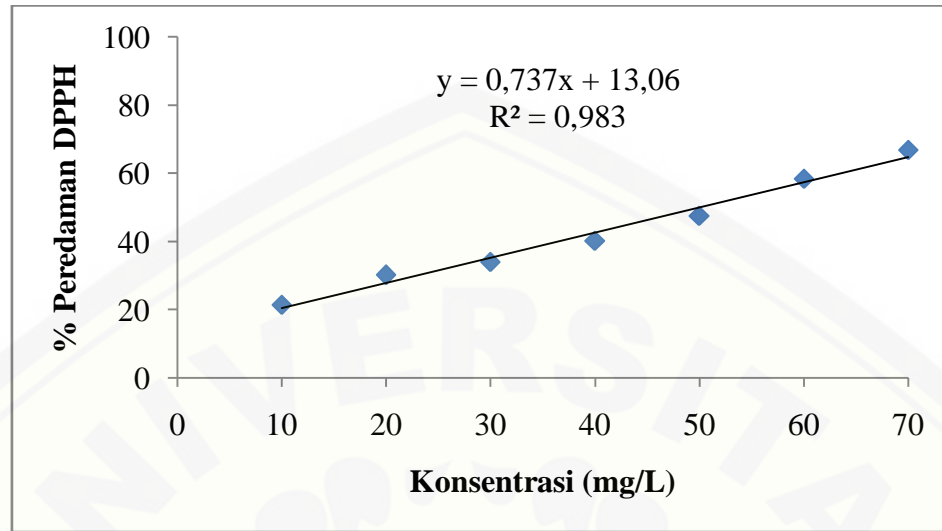
Tabel 2.4a Persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil

Konsentrasi (mg/L)	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata \pm SD
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
10	21,727	21,356	21,448	21,510 \pm 0,193
20	30,342	30,065	30,527	30,311 \pm 0,233
30	33,983	33,890	33,055	33,643 \pm 0,511
40	40,000	40,093	39,259	39,784 \pm 0,457
50	47,959	47,403	48,052	47,805 \pm 0,351
60	57,660	58,310	57,289	57,753 \pm 0,517
70	67,131	66,852	64,903	66,903 \pm 1,214

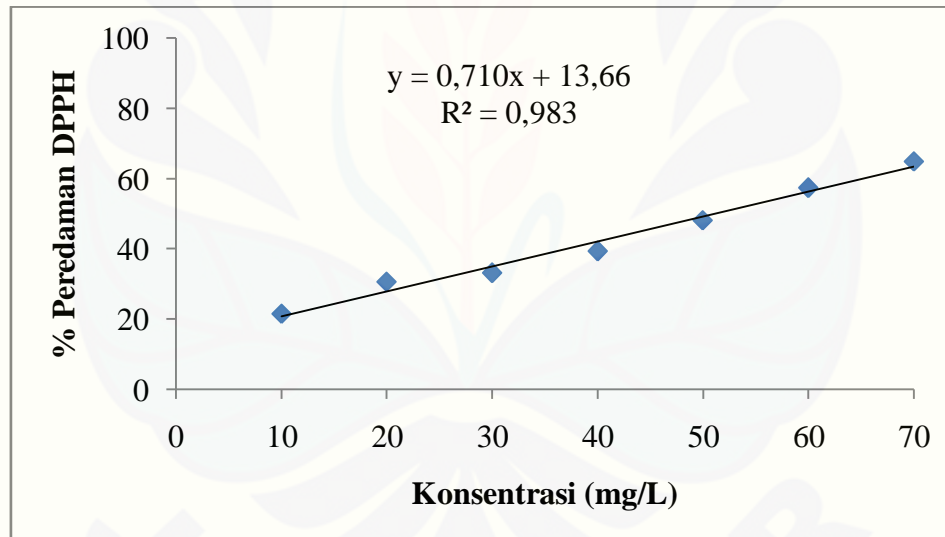
Kurva rata-rata persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil (BK)



Gambar 2.4a Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil replikasi 1



Gambar 2.4b Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil replikasi 2



Gambar 2.4c Kurva persen peredaman DPPH oleh ekstrak etanol 70% daun kenitu bulat kecil replikasi 3

Berdasarkan persamaan yang telah diperoleh pada kurva diatas, dapat diketahui nilai x atau nilai IC_{50} peredaman radikal bebas oleh sampel dengan memasukkan nilai 50 ke y. Berikut contoh perhitungannya:

$$Y = 4,903x + 26,22$$

$$50 = 4,903x + 26,22$$

$$X = 4,850 \text{ mg/L}$$

Tabel D.2 Nilai IC_{50} Daun Kenitu Bulat Kecil (BK)

Sampel BK	IC_{50} (mg/L)
Replikasi 1	50,041
Replikasi 2	50,122
Replikasi 3	51,183
Rata-rata	50,449
SD	0,637

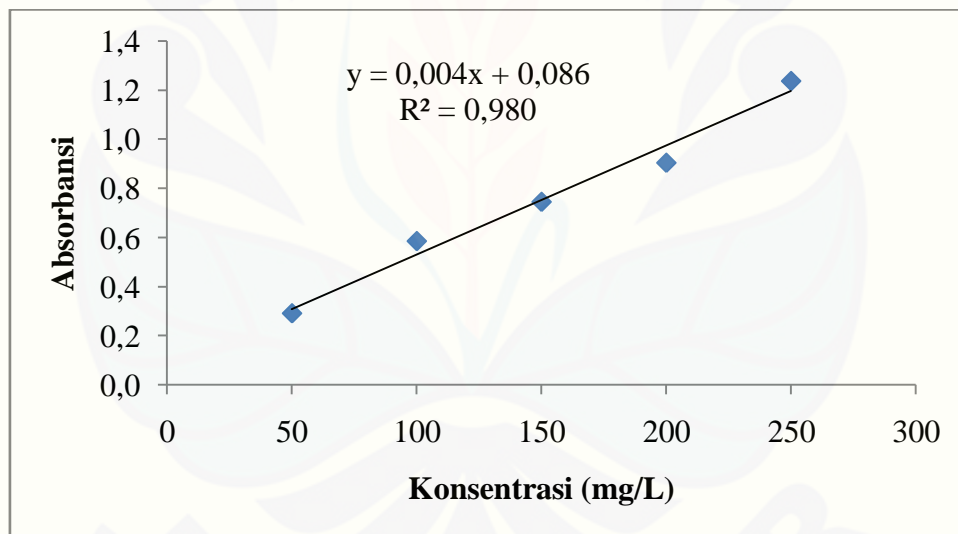
LAMPIRAN E

DATA ANALISIS KANDUNGAN TOTAL POLIFENOL

Tabel E1. Hasil analisis kandungan total polifenol pada standar asam galat

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi λ 751 nm			Absorbansi Rata-rata	SD
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Asam Galat	50	0,292	0,290	0,285	0,289	0,004
	100	0,585	0,580	0,587	0,584	0,004
	150	0,740	0,739	0,754	0,744	0,008
	200	0,916	0,898	0,897	0,904	0,011
	250	1,231	1,231	1,242	1,238	0,006

Kurva Absorbansi Standar Asam Galat



Gambar E1. Kurva absorbansi standar (Asam Galat)

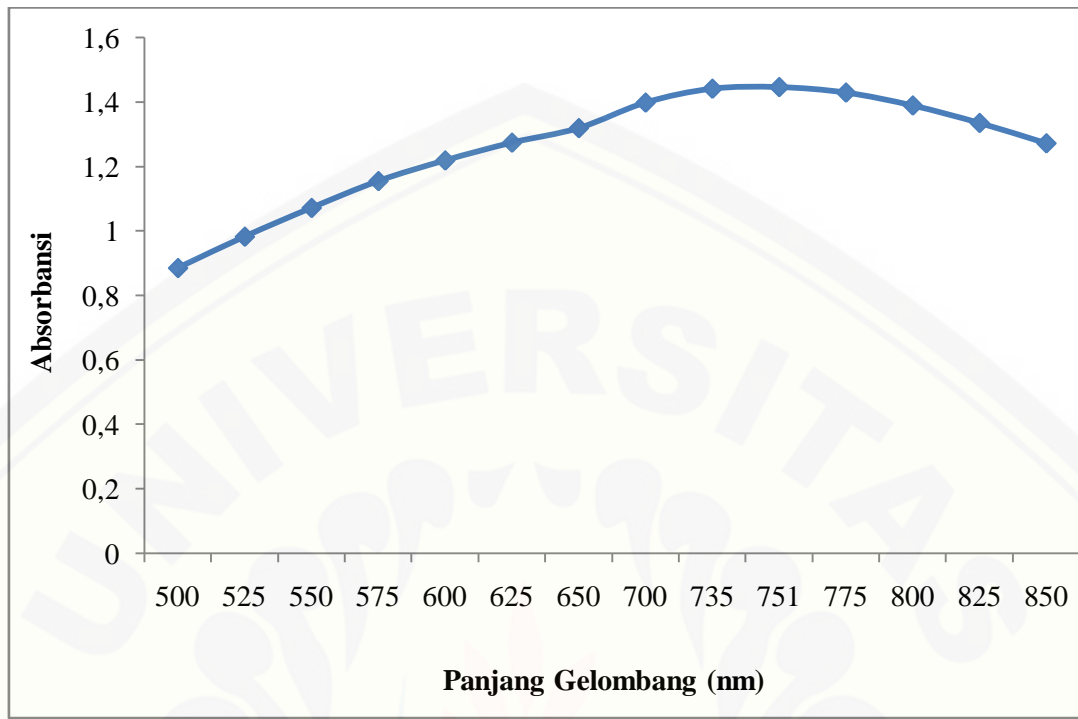
Tabel E2. Hasil analisis kandungan total polifenol pada sampel daun kenitu berbagai varian

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Rep.	Abs.	Kadar Polifenol Total (mg GAE/g Ekstrak)	Rata-rata kadar Polifenol Total (mg GAE/g Ekstrak) \pm SD
BB	600	1	0,769	149,781	150,073 \pm 0,335
		2	0,770	150,000	
		3	0,772	150,439	
HL	600	1	0,952	189,912	190,278 \pm 0,457
		2	0,956	190,789	
		3	0,953	190,132	
U	800	1	0,372	62,719	63,377 \pm 0,658
		2	0,378	64,035	
		3	0,375	63,377	
BK	600	1	0,772	150,439	152,339 \pm 1,660
		2	0,784	153,070	
		3	0,786	153,509	

Hasil Skrining Panjang Gelombang Maksimum Uji Total Polifenol

Tabel F3. Hasil skrining panjang gelombang maksimum uji total polifenol

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,885
525	0,982
550	1,071
575	1,154
600	1,218
625	1,273
650	1,318
700	1,397
735	1,44
751	1,445
775	1,428
800	1,388
825	1,334
850	1,271



Gambar E2. Kurva skrining panjang gelombang maksimum uji total polifenol

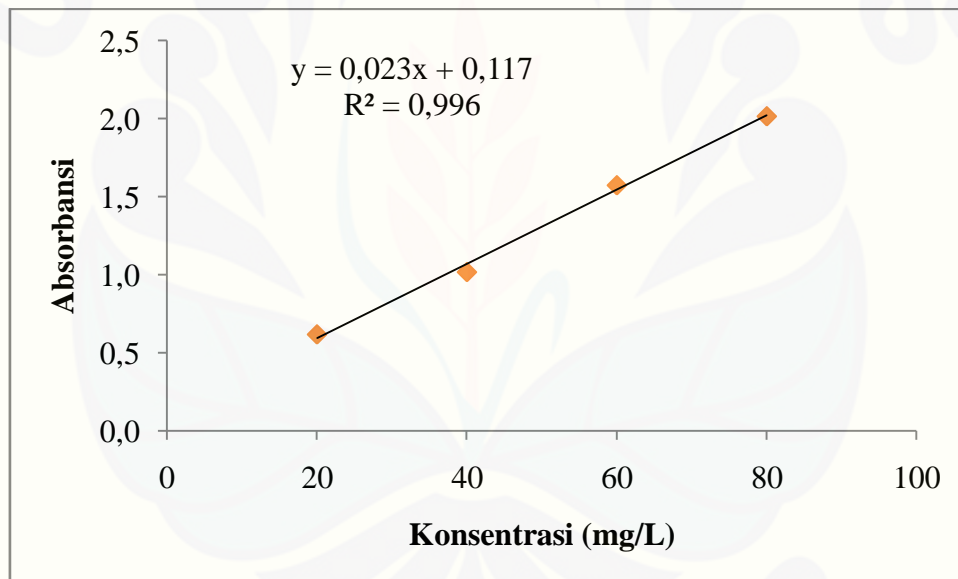
LAMPIRAN F

DATA ANALISIS KANDUNGAN TOTAL FLAVONOID

Tabel F1. Hasil analisis kandungan total flavonoid pada standar kuersetin

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi λ 751 nm			Absorbansi Rata-rata	SD
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		
Kuersetin	20	0,613	0,615	0,624	0,617	0,006
	40	1,002	1,023	1,026	1,017	0,013
	60	1,591	1,565	1,565	1,574	0,015
	80	2,002	2,020	2,026	2,016	0,012
	100	2,235	2,258	2,281	2,258	0,023

Kurva Standar Kuersetin



Gambar F1. Kurva absorbansi standar kuersetin

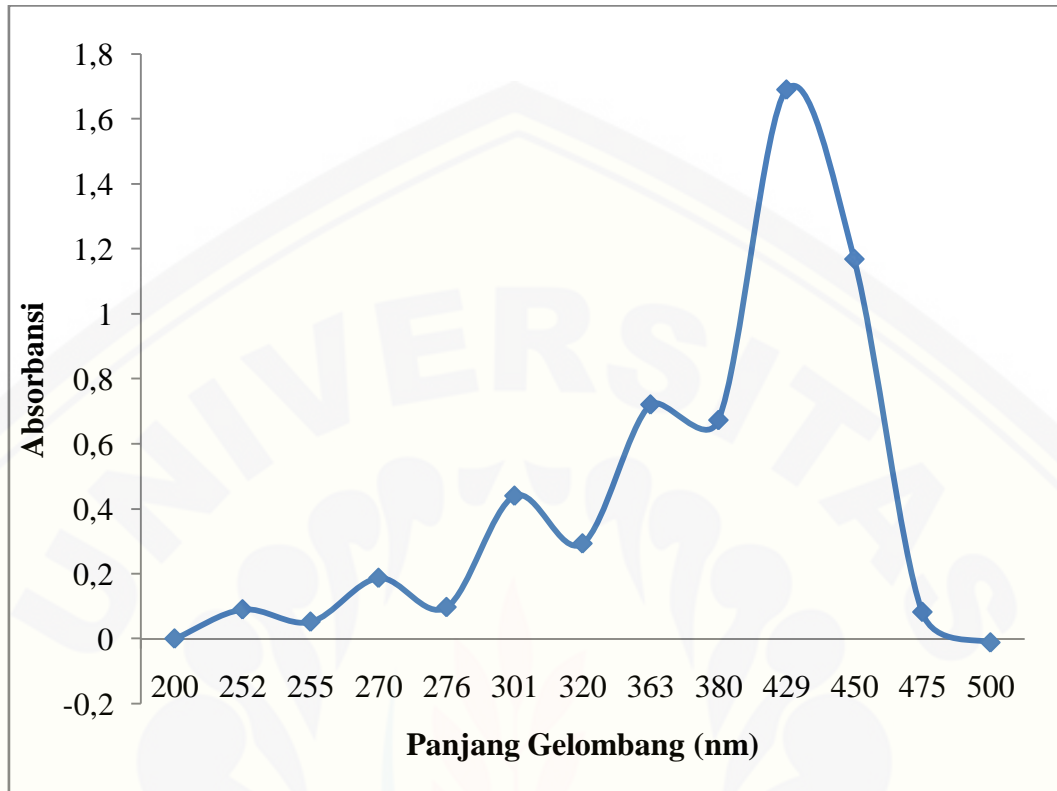
Tabel F2. Hasil analisis kandungan total flavonoid pada sampel daun kenitu berbagai varian

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Rep.	Abs.	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g Ekstrak)	Rata-rata kadar Flavonoid Total (mg QE/g Ekstrak) \pm SD
BB	2000	1	1,084	20,762	20,802 \pm 0,050
		2	1,088	20,786	
		3	1,085	20,802	
HL	2000	1	0,878	15,857	16,000 \pm 0,290
		2	0,876	15,810	
		3	0,898	16,333	
U	2000	1	0,718	12,048	11,905 \pm 0,172
		2	0,714	11,952	
		3	0,704	11,714	
BK	2000	1	0,851	15,214	15,222 \pm 0,179
		2	0,844	15,048	
		3	0,859	15,405	

Hasil Skrining Panjang Gelombang Maksimum Uji Total Favonoid

Tabel F3. Hasil skrining panjang gelombang maksimum uji total flavonoid

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
200	0
252	0,09
255	0,052
270	0,187
276	0,097
301	0,44
320	0,293
363	0,721
380	0,673
429	1,691
450	1,169
475	0,082
500	-0,012



Gambar F2. Kurva skrining panjang gelombang maksimum uji total flavonoid

LAMPIRAN G
DATA ANALISIS STATISTIK

1. Analisis Data Hasil Optimasi

a) Aktivitas Antioksidan Kenitu Bulat Besar

Tests of Normality

Jenis Pelarut		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% Peredaman DPPH	Aseton 96%	.337	3	.	.855	3	.253
	Aseton 70%	.349	3	.	.832	3	.193
	Aseton 50%	.253	3	.	.964	3	.637
	Air	.254	3	.	.964	3	.634
	Etanol 96%	.253	3	.	.964	3	.637
	Etanol 70%	.193	3	.	.997	3	.890
	Etanol 50%	.269	3	.	.950	3	.567

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

% Peredaman DPPH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.699	6	14	.194

ANOVA

% Peredaman DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13771.324	6	2295.221	4.895E3	.000
Within Groups	6.565	14	.469		
Total	13777.889	20			

Multiple Comparisons

% Peredaman DPPH
LSD

(I) Jenis Pelarut	(J) Jenis Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aseton 96%	Aseton 70%	-40.369333*	.559127	.000	-41.56854	-39.17013
	Aseton 50%	-32.571000*	.559127	.000	-33.77021	-31.37179
	Air	1.084333	.559127	.073	-.11487	2.28354
	Etanol 96%	-5.239667*	.559127	.000	-6.43887	-4.04046
	Etanol 70%	-71.151667*	.559127	.000	-72.35087	-69.95246
	Etanol 50%	-48.163667*	.559127	.000	-49.36287	-46.96446
Aseton 70%	Aseton 96%	40.369333*	.559127	.000	39.17013	41.56854
	Aseton 50%	7.798333*	.559127	.000	6.59913	8.99754
	Air	41.453667*	.559127	.000	40.25446	42.65287
	Etanol 96%	35.129667*	.559127	.000	33.93046	36.32887
	Etanol 70%	-30.782333*	.559127	.000	-31.98154	-29.58313
	Etanol 50%	-7.794333*	.559127	.000	-8.99354	-6.59513
Aseton 50%	Aseton 96%	32.571000*	.559127	.000	31.37179	33.77021
	Aseton 70%	-7.798333*	.559127	.000	-8.99754	-6.59913
	Air	33.655333*	.559127	.000	32.45613	34.85454
	Etanol 96%	27.331333*	.559127	.000	26.13213	28.53054

	Etanol 70%	-38.580667*	.559127	.000	-39.77987	-37.38146
	Etanol 50%	-15.592667*	.559127	.000	-16.79187	-14.39346
Air	Aseton 96%	-1.084333	.559127	.073	-2.28354	.11487
	Aseton 70%	-41.453667*	.559127	.000	-42.65287	-40.25446
	Aseton 50%	-33.655333*	.559127	.000	-34.85454	-32.45613
	Etanol 96%	-6.324000*	.559127	.000	-7.52321	-5.12479
	Etanol 70%	-72.236000*	.559127	.000	-73.43521	-71.03679
	Etanol 50%	-49.248000*	.559127	.000	-50.44721	-48.04879
Etanol 96%	Aseton 96%	5.239667*	.559127	.000	4.04046	6.43887
	Aseton 70%	-35.129667*	.559127	.000	-36.32887	-33.93046
	Aseton 50%	-27.331333*	.559127	.000	-28.53054	-26.13213
	Air	6.324000*	.559127	.000	5.12479	7.52321
	Etanol 70%	-65.912000*	.559127	.000	-67.11121	-64.71279
	Etanol 50%	-42.924000*	.559127	.000	-44.12321	-41.72479
Etanol 70%	Aseton 96%	71.151667*	.559127	.000	69.95246	72.35087
	Aseton 70%	30.782333*	.559127	.000	29.58313	31.98154
	Aseton 50%	38.580667*	.559127	.000	37.38146	39.77987
	Air	72.236000*	.559127	.000	71.03679	73.43521
	Etanol 96%	65.912000*	.559127	.000	64.71279	67.11121

	Etanol 50%	22.988000*	.559127	.000	21.78879	24.18721
Etanol 50%	Aseton 96%	48.163667*	.559127	.000	46.96446	49.36287
	Aseton 70%	7.794333*	.559127	.000	6.59513	8.99354
	Aseton 50%	15.592667*	.559127	.000	14.39346	16.79187
	Air	49.248000*	.559127	.000	48.04879	50.44721
	Etanol 96%	42.924000*	.559127	.000	41.72479	44.12321
	Etanol 70%	-22.988000*	.559127	.000	-24.18721	-21.78879

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

b) Aktivitas Antioksidan Kenitu Hijau Lonjong

Tests of Normality

	Jenis Pelarut	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% Peredaman DPPH	Aseton 96%	.358	3	.	.812	3	.144
	Aseton 70%	.360	3	.	.807	3	.132
	Aseton 50%	.337	3	.	.855	3	.254
	Air	.252	3	.	.965	3	.639
	Etanol 96%	.341	3	.	.848	3	.234
	Etanol 70%	.358	3	.	.814	3	.148
	Etanol 50%	.219	3	.	.987	3	.780

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

% Peredaman DPPH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.663	6	14	.008

Test of Homogeneity of Variances

trn_IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.164	6	14	.379

ANOVA

trn_IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.021	6	.004	3.726E3	.000
Within Groups	.000	14	.000		
Total	.021	20			

Multiple Comparisons

trn_IC50

LSD

(I) Jenis Pelarut	(J) Jenis Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aseton 96%	Aseton 70%	-.00517*	.00079	.000	-.0069	-.0035
	Aseton 50%	.01964*	.00079	.000	.0179	.0213
	Air	-.06188*	.00079	.000	-.0636	-.0602
	Etanol 96%	.01541*	.00079	.000	.0137	.0171

	Etanol 70%	.04756*	.00079	.000	.0459	.0493
	Etanol 50%	.02252*	.00079	.000	.0208	.0242
Aseton 70%	Aseton 96%	.00517*	.00079	.000	.0035	.0069
	Aseton 50%	.02481*	.00079	.000	.0231	.0265
	Air	-.05671*	.00079	.000	-.0584	-.0550
	Etanol 96%	.02058*	.00079	.000	.0189	.0223
	Etanol 70%	.05274*	.00079	.000	.0510	.0544
	Etanol 50%	.02769*	.00079	.000	.0260	.0294
Aseton 50%	Aseton 96%	-.01964*	.00079	.000	-.0213	-.0179
	Aseton 70%	-.02481*	.00079	.000	-.0265	-.0231
	Air	-.08152*	.00079	.000	-.0832	-.0798
	Etanol 96%	-.00423*	.00079	.000	-.0059	-.0025
	Etanol 70%	.02793*	.00079	.000	.0262	.0296
	Etanol 50%	.00288*	.00079	.003	.0012	.0046
Air	Aseton 96%	.06188*	.00079	.000	.0602	.0636
	Aseton 70%	.05671*	.00079	.000	.0550	.0584
	Aseton 50%	.08152*	.00079	.000	.0798	.0832
	Etanol 96%	.07729*	.00079	.000	.0756	.0790
	Etanol 70%	.10945*	.00079	.000	.1077	.1112

	Etanol 50%	.08440*	.00079	.000	.0827	.0861
Etanol 96%	Aseton 96%	-.01541*	.00079	.000	-.0171	-.0137
	Aseton 70%	-.02058*	.00079	.000	-.0223	-.0189
	Aseton 50%	.00423*	.00079	.000	.0025	.0059
	Air	-.07729*	.00079	.000	-.0790	-.0756
	Etanol 70%	.03216*	.00079	.000	.0305	.0339
	Etanol 50%	.00711*	.00079	.000	.0054	.0088
Etanol 70%	Aseton 96%	-.04756*	.00079	.000	-.0493	-.0459
	Aseton 70%	-.05274*	.00079	.000	-.0544	-.0510
	Aseton 50%	-.02793*	.00079	.000	-.0296	-.0262
	Air	-.10945*	.00079	.000	-.1112	-.1077
	Etanol 96%	-.03216*	.00079	.000	-.0339	-.0305
	Etanol 50%	-.02505*	.00079	.000	-.0267	-.0233
Etanol 50%	Aseton 96%	-.02252*	.00079	.000	-.0242	-.0208
	Aseton 70%	-.02769*	.00079	.000	-.0294	-.0260
	Aseton 50%	-.00288*	.00079	.003	-.0046	-.0012
	Air	-.08440*	.00079	.000	-.0861	-.0827
	Etanol 96%	-.00711*	.00079	.000	-.0088	-.0054
	Etanol 70%	.02505*	.00079	.000	.0233	.0267

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

c) Aktivitas Antioksidan Kenitu Ungu

Tests of Normality

	Jenis Pelarut	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% Peredaman DPPH	Aseton 96%	.233	3	.	.979	3	.725
	Aseton 70%	.253	3	.	.964	3	.636
	Aseton 50%	.343	3	.	.842	3	.221
	Air	.253	3	.	.964	3	.637
	Etanol 96%	.359	3	.	.810	3	.138
	Etanol 70%	.333	3	.	.862	3	.274
	Etanol 50%	.328	3	.	.871	3	.298

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

% Peredaman DPPH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.987	6	14	.006

Test of Homogeneity of Variances

trn_IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.687	6	14	.663

ANOVA

trn_IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.040	6	.007	6.409E3	.000
Within Groups	.000	14	.000		
Total	.040	20			

Multiple Comparisons

trn_IC50
LSD

(I) Jenis Pelarut	(J) Jenis Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aseton 96%	Aseton 70%	-.04084*	.00083	.000	-.0426	-.0391
	Aseton 50%	-.01604*	.00083	.000	-.0178	-.0143
	Air	-.09043*	.00083	.000	-.0922	-.0886
	Etanol 96%	.03224*	.00083	.000	.0305	.0340
	Etanol 70%	.03646*	.00083	.000	.0347	.0382
	Etanol 50%	.03202*	.00083	.000	.0302	.0338
Aseton 70%	Aseton 96%	.04084*	.00083	.000	.0391	.0426
	Aseton 50%	.02480*	.00083	.000	.0230	.0266
	Air	-.04959*	.00083	.000	-.0514	-.0478
	Etanol 96%	.07308*	.00083	.000	.0713	.0749
	Etanol 70%	.07730*	.00083	.000	.0755	.0791

	Etanol 50%	.07286*	.00083	.000	.0711	.0746
Aseton 50%	Aseton 96%	.01604*	.00083	.000	.0143	.0178
	Aseton 70%	-.02480*	.00083	.000	-.0266	-.0230
	Air	-.07439*	.00083	.000	-.0762	-.0726
	Etanol 96%	.04828*	.00083	.000	.0465	.0501
	Etanol 70%	.05250*	.00083	.000	.0507	.0543
	Etanol 50%	.04805*	.00083	.000	.0463	.0498
Air	Aseton 96%	.09043*	.00083	.000	.0886	.0922
	Aseton 70%	.04959*	.00083	.000	.0478	.0514
	Aseton 50%	.07439*	.00083	.000	.0726	.0762
	Etanol 96%	.12267*	.00083	.000	.1209	.1244
	Etanol 70%	.12689*	.00083	.000	.1251	.1287
	Etanol 50%	.12244*	.00083	.000	.1207	.1242
Etanol 96%	Aseton 96%	-.03224*	.00083	.000	-.0340	-.0305
	Aseton 70%	-.07308*	.00083	.000	-.0749	-.0713
	Aseton 50%	-.04828*	.00083	.000	-.0501	-.0465
	Air	-.12267*	.00083	.000	-.1244	-.1209
	Etanol 70%	.00422*	.00083	.000	.0024	.0060
	Etanol 50%	-.00023	.00083	.789	-.0020	.0016

Etanol 70%	Aseton 96%	-.03646*	.00083	.000	-.0382	-.0347
	Aseton 70%	-.07730*	.00083	.000	-.0791	-.0755
	Aseton 50%	-.05250*	.00083	.000	-.0543	-.0507
	Air	-.12689*	.00083	.000	-.1287	-.1251
	Etanol 96%	-.00422*	.00083	.000	-.0060	-.0024
	Etanol 50%	-.00445*	.00083	.000	-.0062	-.0027
Etanol 50%	Aseton 96%	-.03202*	.00083	.000	-.0338	-.0302
	Aseton 70%	-.07286*	.00083	.000	-.0746	-.0711
	Aseton 50%	-.04805*	.00083	.000	-.0498	-.0463
	Air	-.12244*	.00083	.000	-.1242	-.1207
	Etanol 96%	.00023	.00083	.789	-.0016	.0020
	Etanol 70%	.00445*	.00083	.000	.0027	.0062

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

d) Aktivitas Antioksidan Kenitu Bulat Kecil

Tests of Normality

Jenis Pelarut	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% Peredaman DPPH	Aseton 96%	.219	3	.987	3	.780
	Aseton 70%	.346	3	.837	3	.206
	Aseton 50%	.369	3	.787	3	.085
	Air	.343	3	.842	3	.220
	Etanol 96%	.196	3	.996	3	.877

Etanol 70%	.311	3	.	.897	3	.375
Etanol 50%	.238	3	.	.976	3	.702

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

% Peredaman DPPH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.056	6	14	.125

ANOVA

% Peredaman DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8370.883	6	1395.147	1.677E3	.000
Within Groups	11.648	14	.832		
Total	8382.531	20			

Multiple Comparisons

% Peredaman DPPH

LSD

(I) Jenis Pelarut	(J) Jenis Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aseton 96%	Aseton 70%	-14.307333*	.744747	.000	-15.90466	-12.71001
	Aseton 50%	-36.361667*	.744747	.000	-37.95899	-34.76434
	Air	12.930667*	.744747	.000	11.33334	14.52799
	Etanol 96%	-6.099333*	.744747	.000	-7.69666	-4.50201
	Etanol 70%	-50.323333*	.744747	.000	-51.92066	-48.72601

	Etanol 50%	-13.454333 *	.744747	.000	-15.05166	-11.85701
Aseton 70%	Aseton 96%	14.307333 *	.744747	.000	12.71001	15.90466
	Aseton 50%	-22.054333 *	.744747	.000	-23.65166	-20.45701
	Air	27.238000 *	.744747	.000	25.64068	28.83532
	Etanol 96%	8.208000 *	.744747	.000	6.61068	9.80532
	Etanol 70%	-36.016000 *	.744747	.000	-37.61332	-34.41868
	Etanol 50%	.853000	.744747	.271	-.74432	2.45032
Aseton 50%	Aseton 96%	36.361667 *	.744747	.000	34.76434	37.95899
	Aseton 70%	22.054333 *	.744747	.000	20.45701	23.65166
	Air	49.292333 *	.744747	.000	47.69501	50.88966
	Etanol 96%	30.262333 *	.744747	.000	28.66501	31.85966
	Etanol 70%	-13.961667 *	.744747	.000	-15.55899	-12.36434
	Etanol 50%	22.907333 *	.744747	.000	21.31001	24.50466
Air	Aseton 96%	-12.930667 *	.744747	.000	-14.52799	-11.33334
	Aseton 70%	-27.238000 *	.744747	.000	-28.83532	-25.64068
	Aseton 50%	-49.292333 *	.744747	.000	-50.88966	-47.69501
	Etanol 96%	-19.030000 *	.744747	.000	-20.62732	-17.43268
	Etanol 70%	-63.254000 *	.744747	.000	-64.85132	-61.65668
	Etanol 50%	-26.385000 *	.744747	.000	-27.98232	-24.78768

Etanol 96%	Aseton 96%	6.099333 *	.744747	.000	4.50201	7.69666
	Aseton 70%	-8.208000 *	.744747	.000	-9.80532	-6.61068
	Aseton 50%	-30.262333 *	.744747	.000	-31.85966	-28.66501
	Air	19.030000 *	.744747	.000	17.43268	20.62732
	Etanol 70%	-44.224000 *	.744747	.000	-45.82132	-42.62668
	Etanol 50%	-7.355000 *	.744747	.000	-8.95232	-5.75768
Etanol 70%	Aseton 96%	50.323333 *	.744747	.000	48.72601	51.92066
	Aseton 70%	36.016000 *	.744747	.000	34.41868	37.61332
	Aseton 50%	13.961667 *	.744747	.000	12.36434	15.55899
	Air	63.254000 *	.744747	.000	61.65668	64.85132
	Etanol 96%	44.224000 *	.744747	.000	42.62668	45.82132
	Etanol 50%	36.869000 *	.744747	.000	35.27168	38.46632
Etanol 50%	Aseton 96%	13.454333 *	.744747	.000	11.85701	15.05166
	Aseton 70%	-.853000	.744747	.271	-2.45032	.74432
	Aseton 50%	-22.907333 *	.744747	.000	-24.50466	-21.31001
	Air	26.385000 *	.744747	.000	24.78768	27.98232
	Etanol 96%	7.355000 *	.744747	.000	5.75768	8.95232
	Etanol 70%	-36.869000 *	.744747	.000	-38.46632	-35.27168

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

2. Analisis Data Hasil Penelitian Utama

a) Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Tests of Normality

Varian Daun Kenitu	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Bulat Besar	.298	3	.	.915	3	.435
Hijau Lonjong	.178	3	.	.999	3	.956
Ungu	.325	3	.	.875	3	.311
Bulat Kecil	.363	3	.	.803	3	.121

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.122	3	8	.029

Test of Homogeneity of Variances

trn_IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.354	3	8	.148

ANOVA

trn_IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	3	.001	2.960E3	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.004	11			

Multiple Comparisons

trn_IC50

LSD

(I) Varian Daun Kenitu	(J) Varian Daun Kenitu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Bulat Besar	Hijau Lonjong	.01178*	.00054	.000	.0105	.0130
	Ungu	.04812*	.00054	.000	.0469	.0494
	Bulat Kecil	.02467*	.00054	.000	.0234	.0259
Hijau Lonjong	Bulat Besar	-.01178*	.00054	.000	-.0130	-.0105
	Ungu	.03635*	.00054	.000	.0351	.0376
	Bulat Kecil	.01289*	.00054	.000	.0117	.0141
Ungu	Bulat Besar	-.04812*	.00054	.000	-.0494	-.0469
	Hijau Lonjong	-.03635*	.00054	.000	-.0376	-.0351
	Bulat Kecil	-.02345*	.00054	.000	-.0247	-.0222
Bulat Kecil	Bulat Besar	-.02467*	.00054	.000	-.0259	-.0234
	Hijau Lonjong	-.01289*	.00054	.000	-.0141	-.0117
	Ungu	.02345*	.00054	.000	.0222	.0247

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

b) Analisis Data Kadar Polifenol Total

Tests of Normality

Varian Daun Kenitu	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Kadar Polifenol Total	Bulat Besar	.253	3	.	.964	3	.636
	Hijau Lonjong	.292	3	.	.924	3	.465
	Ungu	.175	3	.	1.000	3	.999
	Bulat Kecil	.337	3	.	.855	3	.253

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Polifenol Total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.748	3	8	.021

Test of Homogeneity of Variances

trn_TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.609	3	8	.124

ANOVA

trn_TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.010	3	.003	1.737E4	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.010	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

trn_TPC

LSD

(I) Varian Daun Kenitu	(J) Varian Daun Kenitu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Bulat Besar	Hijau Lonjong	.00914*	.00036	.000	.0083	.0100
	Ungu	-.06342*	.00036	.000	-.0643	-.0626
	Bulat Kecil	.00061	.00036	.131	-.0002	.0014
Hijau Lonjong	Bulat Besar	-.00914*	.00036	.000	-.0100	-.0083
	Ungu	-.07255*	.00036	.000	-.0734	-.0717
	Bulat Kecil	-.00853*	.00036	.000	-.0094	-.0077
Ungu	Bulat Besar	.06342*	.00036	.000	.0626	.0643
	Hijau Lonjong	.07255*	.00036	.000	.0717	.0734
	Bulat Kecil	.06403*	.00036	.000	.0632	.0649
Bulat Kecil	Bulat Besar	-.00061	.00036	.131	-.0014	.0002
	Hijau Lonjong	.00853*	.00036	.000	.0077	.0094
	Ungu	-.06403*	.00036	.000	-.0649	-.0632

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

c) Analisis Data Kadar Flavonoid Total

Tests of Normality

Varian Daun Kenitu		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Flavonoid Total	Bulat Besar	.288	3	.	.928	3	.481
	Hijau Lonjong	.356	3	.	.818	3	.157
	Ungu	.276	3	.	.942	3	.537
	Bulat Kecil	.184	3	.	.999	3	.929

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Flavonoid Total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.720	3	8	.115

ANOVA

Kadar Flavonoid Total

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.936	3	14.979	1.092E3	.000
Within Groups	.110	8	.014		
Total	45.046	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

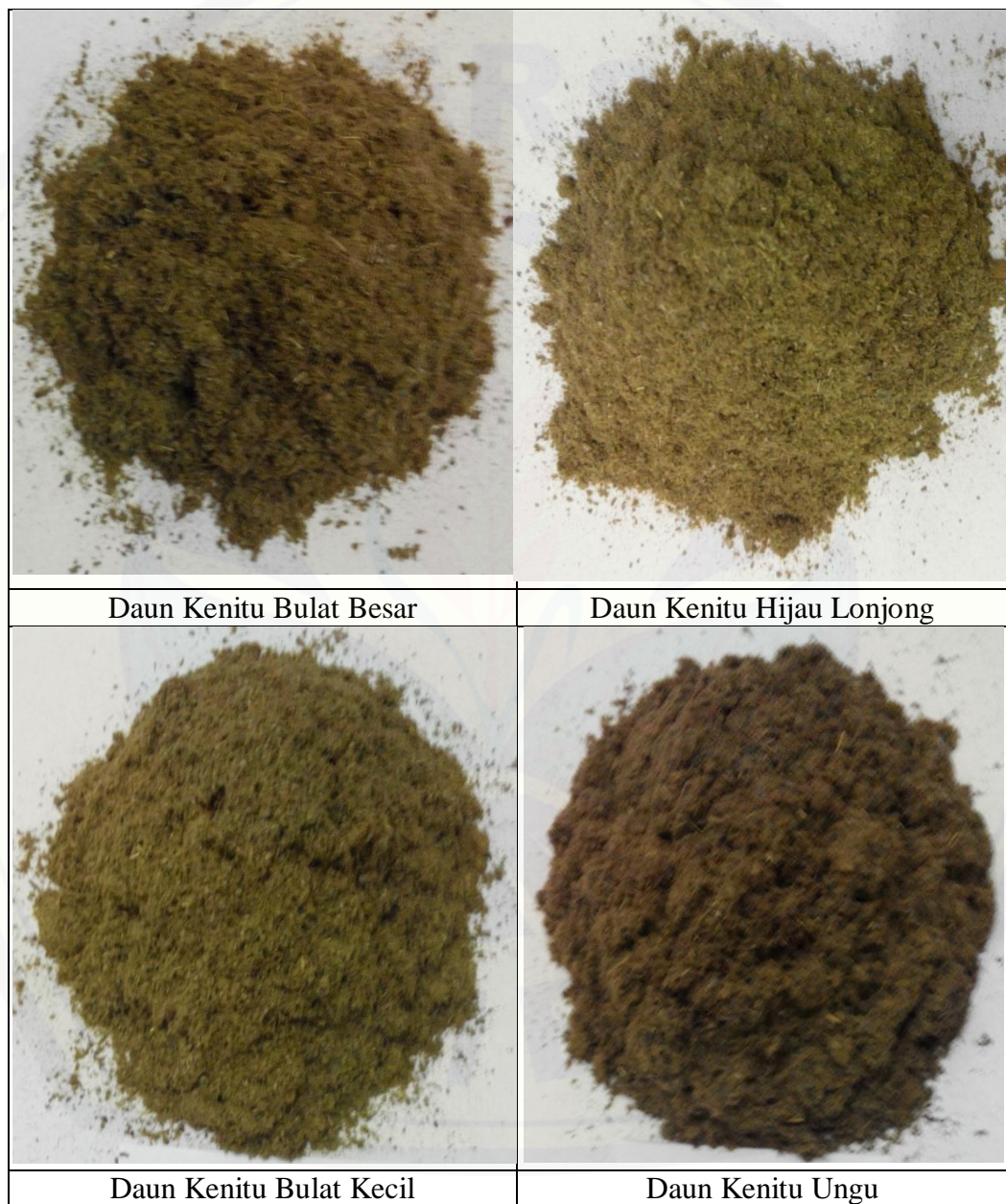
Kadar Flavonoid Total
LSD

(I) Varian Daun Kenitu	(J) Varian Daun Kenitu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Bulat Besar	Hijau Lonjong	2.922333*	.095615	.000	2.70184	3.14282
	Ungu	5.415333*	.095615	.000	5.19484	5.63582
	Bulat Kecil	3.395667*	.095615	.000	3.17518	3.61616
Hijau Lonjong	Bulat Besar	-2.922333*	.095615	.000	-3.14282	-2.70184
	Ungu	2.493000*	.095615	.000	2.27251	2.71349
	Bulat Kecil	.473333*	.095615	.001	.25284	.69382
Ungu	Bulat Besar	-5.415333*	.095615	.000	-5.63582	-5.19484
	Hijau Lonjong	-2.493000*	.095615	.000	-2.71349	-2.27251
	Bulat Kecil	-2.019667*	.095615	.000	-2.24016	-1.79918
Bulat Kecil	Bulat Besar	-3.395667*	.095615	.000	-3.61616	-3.17518
	Hijau Lonjong	-.473333*	.095615	.001	-.69382	-.25284
	Ungu	2.019667*	.095615	.000	1.79918	2.24016

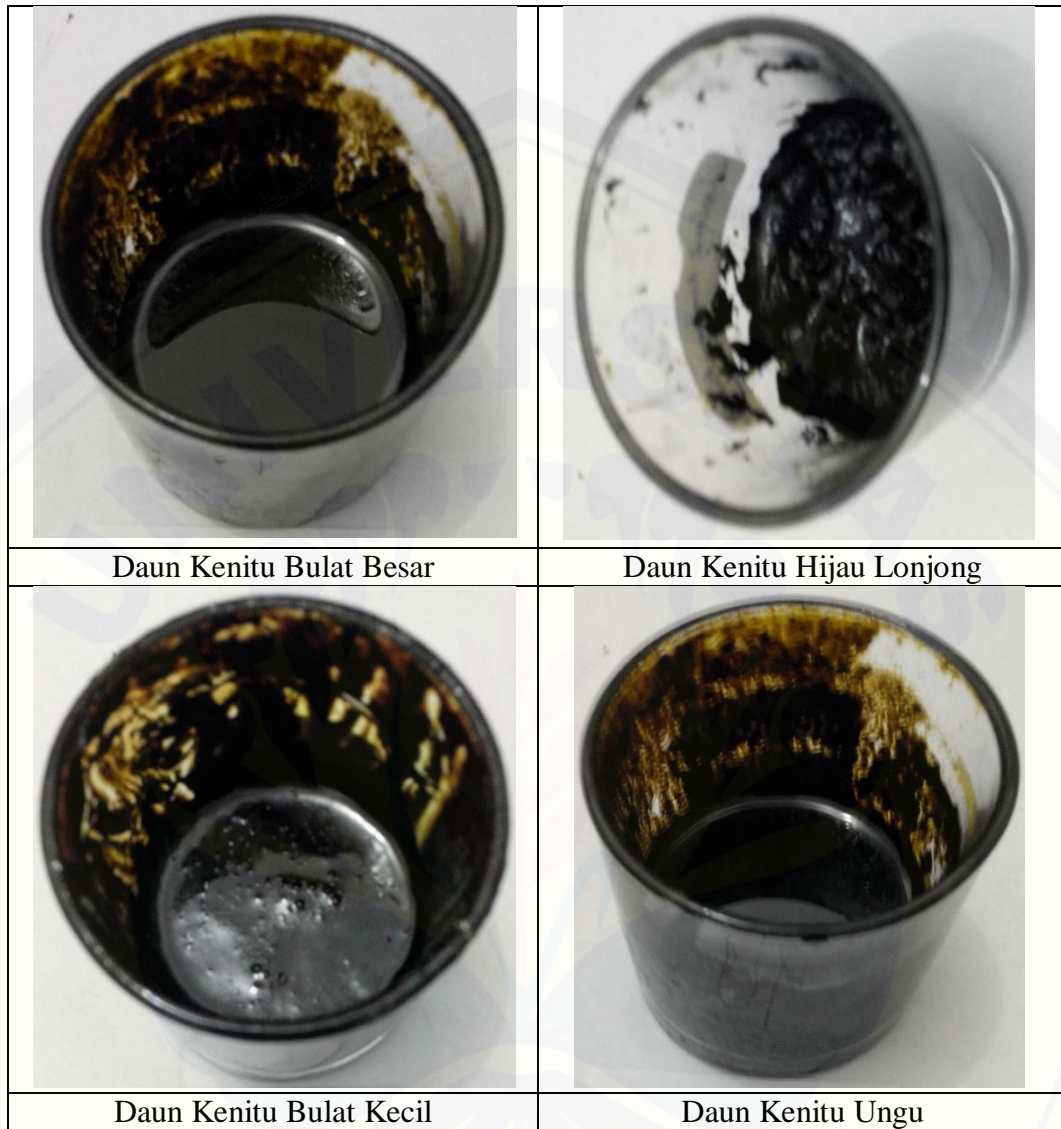
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN H**DOKUMENTASI PENELITIAN**

1. Serbuk Daun Kenitu



2. Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu



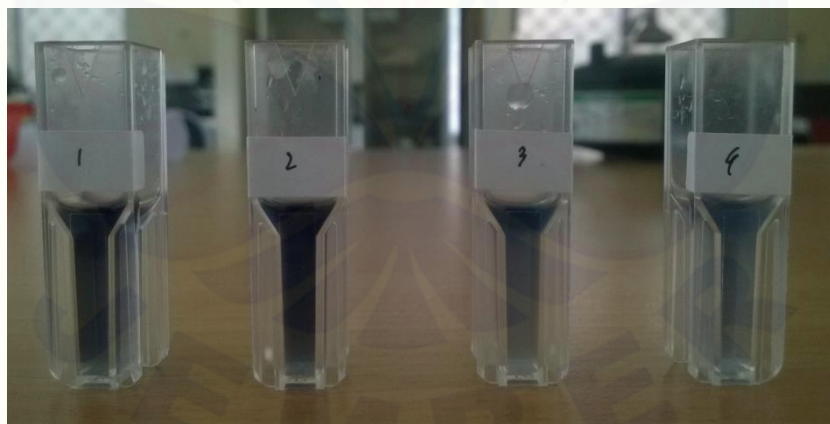
3. Uji Kandungan Total Flavonoid



Catatan:

1. Uji kandungan total flavonoid kenitu Bulat Besar
2. Uji kandungan total flavonoid kenitu Hijau Lonjong
3. Uji kandungan total flavonoid kenitu Bulat Kecil
4. Uji kandungan total flavonoid kenitu Ungu

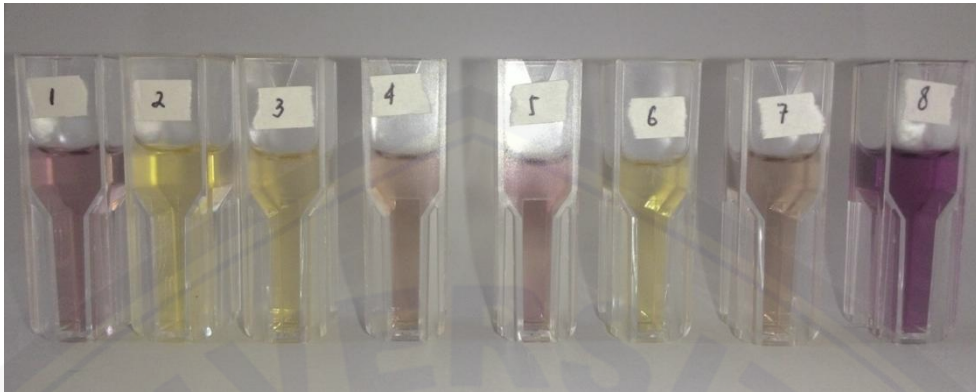
4. Uji Kadar Total Polifenol



Catatan:

1. Uji kandungan total polifenol daun kenitu Bulat Besar
2. Uji kandungan total polifenol daun kenitu Hijau Lonjong
3. Uji kandungan total polifenol daun kenitu Bulat Kecil
4. Uji kandungan total polifenol daun kenitu Ungu

5. Uji Aktivitas Antioksidan



Catatan :

1. Ekstrak etanol 96% daun kenitu
2. Ekstrak etanol 70% daun kenitu
3. Ekstrak etanol 50% daun kenitu
4. Ekstrak air daun kenitu
5. Ekstrak aseton 96% daun kenitu
6. Ekstrak aseton 70% daun kenitu
7. Ekstrak aseton 50% daun kenitu
8. Larutan DPPH 0,004%

LAMPIRAN I

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI DAUN KENTU



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

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

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0694/IPH.06/HM/IV/2015

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

Siti Zulaikhah, NIM : 102210101018

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 20 April 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., tahun 1965 volume II, halaman 190 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Chrysophyllum*
Species : *Chrysophyllum cainito* L.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Dilleniidae*
Ordo : *Ebenales*
Family : *Sapotaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 30 April 2015
An. Kepala
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si