



**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA
GADUNG (*Mangifera indica* L. var. gadung) DAN EKSTRAK ETANOL
DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)**

SKRIPSI

Oleh

**Dewi Kusumaningrum Pamungkas
NIM 122210101049**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA
GADUNG (*Mangifera indica* L. var. gadung) DAN EKSTRAK ETANOL
DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Dewi Kusumaningrum Pamungkas
NIM 122210101049**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibu Lilik Suwarti dan Bapak Sukariyanto untuk doa, jerih payah, kasih sayang, semangat, motivasi, pengorbanan, dan kepercayaan yang selalu mengiringi perjalanan hidup penulis;
2. Kakak Efendi Joko Nugroho dan Kakak Ari Chandra Hanitya yang selalu menjadi penyemangat penulis;
3. Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa sabar membimbing penulis;
4. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. dan Bapak Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran memberikan masukan kepada penulis;
5. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhan-mu lah hendaknya kamu berharap.”

(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8) ^{*)}

Melatih kepekaan intuisi tidak dapat dilakukan dalam sekejap waktu, namun bagaimana cara kita memanfaatkan kekuatan pikiran dengan membiasakan pola pikir positif.

(Zaka Putra Ramdani) ^{**)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2000. Al Qur'an dan Terjemahannya (Ayat Pojok Bergaris). Semarang: Asy Syifa'

^{**)} Ramdani, Z. P. 2015. Gesture Mengungkap Makna di Balik Bahasa Tubuh Orang Lain dari Mikroekspresi hingga Makroekspresi. Klaten: PT Hafamira.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Dewi Kusumaningrum Pamungkas

NIM : 122210101049

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var gadung) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarillyfolius* Roxb.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, September 2016

Yang menyatakan,

(Dewi Kusumaningrum Pamungkas)

NIM 122210101049

SKRIPSI

PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN MANGGA GADUNG (*Mangifera indica* L. var *gadung*) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

Oleh

Dewi Kusumaningrum Pamungkas
NIM 122210101049

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

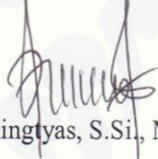
Skripsi berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var gadung) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarillyfolius* Roxb.)” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Senin, 19 September 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Pembimbing

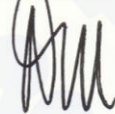
Dosen Pembimbing Utama,



(Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.)

NIP 197806092005012004

Dosen Pembimbing Anggota,

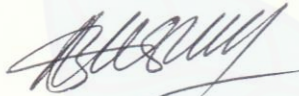


(Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.)

NIP 197604142002122001

Tim Penguji

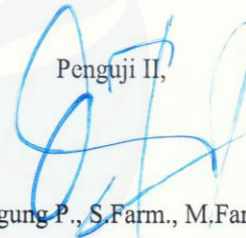
Penguji I,



(Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.)

NIP 196902011994031002

Penguji II,



(Dian Agung P., S.Farm., M.Farm., Apt.)

NIP 198410082008121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



(Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.)

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var *gadung*) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.); Dewi Kusumaningrum Pamungkas, 122210101049; 2016: 68 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Senyawa fenolik merupakan produk alami yang memiliki sifat sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal superoksida bebas, mempunyai sifat *anti-aging* yang baik untuk mengurangi resiko terjadinya kanker dan penyakit degeneratif lainnya. Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu tanaman asli dari Asia Tenggara. Kandungan senyawa polifenol dalam daun mangga yang besar diketahui memiliki banyak fungsi termasuk sebagai antioksidan dan biasa digunakan untuk mengobati beberapa penyakit di beberapa negara. Tumbuhan lain yang juga banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah pandan wangi. Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) juga mengandung senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan yang potensial sehingga dapat mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, dan diabetes.

Potensi antioksidan dari kedua tanaman tersebut bisa dimanfaatkan penggunaannya lebih lanjut, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan kadar fenol total dengan mengkombinasikan ekstrak daun mangga gadung dan daun pandan wangi dalam beberapa perbandingan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar fenol total dan aktivitas antioksidan dalam bentuk tunggal ekstrak terhadap kombinasi kedua ekstrak.

Tahapan penelitian yang pertama adalah ekstraksi, kemudian pengujian aktivitas antioksidan, dan penetapan kadar fenol total. Ekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan pelarut metanol untuk daun mangga gadung dan etanol 96% untuk daun pandan wangi. Metode pengukuran aktivitas antioksidan yang digunakan adalah DPPH dengan vitamin C sebagai kontrol positif, sedangkan

untuk penetapan kadar fenol total adalah pewarnaan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai pembanding. Uji statistik menggunakan *one way anova* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* (LSD).

Hasil penelitian menunjukkan, rendemen yang diperoleh dari ekstraksi 100 g masing-masing serbuk daun mangga gadung dan daun pandan wangi berturut-turut sebesar 20,95% dan 11,65%. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kelima perbandingan kombinasi ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibandingkan vitamin C. Nilai IC_{50} vitamin C sebesar $2,613 \pm 0,021$ $\mu\text{g/ml}$, diikuti ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal sebesar $3,263 \pm 0,009$ $\mu\text{g/ml}$, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal sebesar $39,700 \pm 1,033$ $\mu\text{g/ml}$, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi pada perbandingan 2:1 sebesar $7,483 \pm 0,039$ $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:1 sebesar $13,392 \pm 0,157$ $\mu\text{g/ml}$, dan perbandingan 1:2 sebesar $10,951 \pm 0,084$ $\mu\text{g/ml}$. Kadar fenol total yang terbesar adalah kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi (2:1) ($330,216 \pm 5,778$ mg GAE/g ekstrak), kemudian disusul oleh ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal ($307,982 \pm 5,386$ mg GAE/g ekstrak), kombinasi 1:1 ($228,176 \pm 2,778$ mg GAE/g ekstrak), kombinasi 1:2 ($151,355 \pm 0,4589$ mg GAE/g ekstrak), dan yang memiliki kadar fenol total yang terkecil adalah ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal ($44,244 \pm 0,122$ mg GAE/g ekstrak). Kombinasi ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar dari kelima perbandingan kombinasi tidak dihasilkan dari kadar fenol total yang paling besar.

Hasil uji Anova dan uji LSD menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berbeda pada masing-masing perbandingan kombinasi dan pembanding secara bermakna. Selain itu, kadar fenol total dari masing-masing perbandingan kombinasi juga menunjukkan perbedaan yang bermakna dilihat dari besarnya signifikansi pada uji anova (0,000) yang lebih kecil dari nilai α 1% (nilai $p < 0,01$) dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var gadung) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarillyfolius* Roxb.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan dan penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi universitas Jember;
2. Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa sabar membimbing penulis;
3. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. dan Bapak Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran memberikan masukan kepada penulis;
4. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi banyak ilmu, berbagi pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan, staff dan karyawan atas segala bantuan yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta Ibu Lilik Suwarti dan Bapak Sukariyanto yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi untuk mengiringi perjalanan hidup penulis; kakak Efendi Joko Nugroho dan Ari Chandra

Hanitya, dan seluruh keluarga besar penulis yang selalu menjadi penyemangat penulis;

8. Rekan-rekan seperjuangan penelitian *Chemistry Fighter* (Yayan, Citra, Yodi, Dea, Dhany, Arimbi, Sarah, Nora, Hidayah, Hafidi, Ozi, Tsabit, Nazila, Vinas, Arjun, Adel, Alyu, Mufit, Agus, Arya) terima kasih untuk kebersamaan, bantuan dan motivasinya saat penelitian;
9. Sahabat-sahabat *cintaku* (Dea, Yayan, Yodi, Utin, Putra) yang selalu memberikan keceriaan dan semangat untuk penulis;
10. Sahabat-sahabat kos Gang Blora (Bal, Dea, Nazila, *Senpai* Uswa) yang selalu menyemangati, memberikan motivasi, saran dan masukan serta *sharing* pengalaman dengan penulis;
11. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2012 Fakultas Farmasi Universitas Jember (PETRUK ROLAS) yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, *KEEP SPIRIT AND FIGHTING*, kalian luar biasa;
12. Anak-anak kos Mastrip II No. 23 A (Mbak Ayu, Mbak Ina, Mbak Nay, Yiska, Mbak Beby, Mbak Firda, Mbak Putri, Mbak Hajeng, Mbak Lusi, Mbak Hayung, Icha, Mbak Prita, Mbak Mindi, dan adik-adik) yang selalu bersama selama beberapa tahun terakhir ini dalam suka maupun duka;
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari-Nya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR RUMUS	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Batasan Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan Tentang Tanaman Mangga Gadung	6
2.1.1. Klasifikasi Mangga Gadung	6
2.1.2. Nama Daerah	6
2.1.3. Deskripsi	6
2.1.4. Morfologi Tanaman Mangga Gadung	7
2.1.5. Kandungan Kimia	8

2.2. Tinjauan Tentang Tanaman Pandan Wangi.....	10
2.2.1. Klasifikasi Pandan Wangi.....	10
2.2.2. Nama Daerah	10
2.2.3. Deskripsi	10
2.2.4. Morfologi Tanaman Pandan Wangi.....	11
2.2.5. Kandungan Kimia	11
2.3. Tinjauan Tentang Radikal Bebas dan Antioksidan	13
2.3.1. Definisi Radikal Bebas	13
2.3.2. Tahapan Reaksi Radikal Bebas.....	14
2.3.3. Definisi Antioksidan	14
2.3.4. Mekanisme Antioksidan	15
2.3.5. Klasifikasi Antioksidan.....	16
2.4. Tinjauan Tentang Senyawa Fenol.....	17
2.5. Tinjauan Umum Vitamin C	19
2.6. Tinjauan Umum Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	21
2.6.1. Metode DPPH	21
2.6.2. Metode ABTS	23
2.6.3. Metode TRAP	23
2.6.4. Metode FRAP	24
2.6.5. Metode Xantin Oksidase.....	24
2.6.6. Metode Kekuatan Pereduksi	24
2.6.7. Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida	24
2.6.8. Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil.....	25
2.6.9. Aktivitas Penghambatan Radikal Oksida Nitrat	25
2.7. Metode Penetapan Kadar Fenol Total dengan Reagen	
Folin-Ciocalteu	26
2.8. Tinjauan Umum Ekstraksi.....	27
2.9. Spektrofotometri UV-Vis	30
2.10. Kerangka Konsep Penelitian	33
BAB 3. METODE PENELITIAN	34
3.1. Jenis Penelitian.....	34

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	34
3.3. Bahan dan Alat.....	34
3.3.1. Bahan	34
3.3.2. Alat.....	34
3.4. Variabel Penelitian.....	35
3.4.1. Variabel Bebas	35
3.4.2. Variabel Terikat	35
3.4.3. Variabel Terkendali	35
3.5. Definisi Operasional Penelitian	35
3.6. Ekstraksi Sampel	35
3.7. Formulasi Kombinasi Ekstrak.....	36
3.8. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	37
3.8.1. Pembuatan Larutan Uji	37
3.8.2. Pembuatan Larutan Vitamin C	38
3.8.3. Pembuatan Larutan DPPH.....	38
3.8.4. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH	38
3.8.5. Penentuan Waktu Inkubasi	39
3.8.6. Penetapan Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Vitamin C..	39
3.8.7. Perhitungan	39
3.9. Penetapan Kadar Fenol Total.....	40
3.9.1. Pembuatan Larutan Uji	40
3.9.2. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat.....	40
3.9.3. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum	40
3.9.4. Penentuan Waktu Inkubasi	41
3.9.5. Penetapan Kadar	41
3.9.6. Perhitungan	41
3.10. Rancangan Penelitian	41
3.10.1. Rancangan Percobaan	41
3.10.2. Alur Penelitian	43
3.11. Analisis Data.....	44
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45

4.1. Ekstraksi Bahan	45
4.2. Pengujian Aktivitas Antioksidan	47
4.2.1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	47
4.2.2. Penentuan Waktu Inkubasi	48
4.2.3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan	49
4.3. Pengukuran Kadar Fenol Total	51
4.3.1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	51
4.3.2. Penentuan Waktu Inkubasi	52
4.3.3. Penetapan Kadar	54
4.4. Hubungan Kadar Fenol Total dengan Aktivitas Antioksidan	55
BAB 5. PENUTUP	58
5.1. Kesimpulan	58
5.2. Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	69

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon	19
2.2 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH	23
3.1 Formulasi kombinasi ekstrak	36
4.1 Hasil ekstraksi sampel	46
4.2 Hasil perhitungan IC_{50} kelima perbandingan kombinasi ekstrak	50
4.3 Hasil penetapan kadar fenol total kelima perbandingan kombinasi ekstrak	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Mangifera indica</i> L. var. gadung	8
2.2 Struktur Kimia Mangiferin	9
2.3 <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.	11
2.4 Struktur Kimia Polifenol.....	19
2.5 Struktur Kimia Vitamin C	20
2.6 Resonansi Pada Stuktur DPPH	21
2.7 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH	22
2.8 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol.....	26
2.11 Kerangka Konsep.....	33
3.1 Skema Alur Penelitian	43
4.1 Spektra absorbansi DPPH vs Sampel	47
4.2 Hubungan waktu terhadap absorbansi	49
4.3 Spektra absorbansi Asam Galat dan Sampel	52
4.4 Hubungan waktu dan absorbansi	53
4.5 Kurva standar asam galat	54
4.6 Kurva hubungan antara IC ₅₀ dengan fenol total kelima perbandingan kombinasi	56

DAFTAR RUMUS

	Halaman
2.1 Reaksi radikal bebas tahap inisiasi	14
2.2 Reaksi radikal bebas tahap propagasi	14
2.3 Reaksi radikal bebas tahap terminasi	14
2.4 Antioksidan primer tahap inisiasi	16
2.5 Antioksidan primer tahap propagasi	16
2.6 Aktivitas antioksidan	23
2.7 Intensitas sinar	31
2.8 Intensitas sinar tanpa Ir	31
2.9 <i>Lambert-Beer</i>	31
3.1 % peredaman DPPH	39
3.2 Persamaan regresi	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Gambar Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi	69
B. Perhitungan % Rendemen	69
C. Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan	69
D. Data Absorbansi	70
E. Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan	74
F. Pengujian Peredaman Radikal Bebas	83
G. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	89
H. Penentuan Waktu Inkubasi	89
I. Perhitungan % Peredaman dan IC ₅₀	91
J. Gambar Penetapan Kadar Fenol Total	112
K. Data Absorbansi Penetapan Kadar Fenol	113
L. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Fenol Total	115
M. Pembuatan Larutan Na ₂ CO ₃ 7,5%	116
N. Hasil Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Fenol	117
O. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi	117
P. Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total	118
Q. Hasil Uji Anova dan LSD	125
R. Sertifikat Determinasi Tanaman Sampel	130

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tubuh manusia dilengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan yang dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas yang disebut sebagai antioksidan. Sistem pertahanan antioksidan ini terbagi menjadi antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis (Nisma *et al.*, 2010; Ahmad & Patong, 2006). Namun, pertahanan dari dalam tubuh ini seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk (Pietta, 2000). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan seperti vitamin C, E, A, karoten, asam-asam fenol, polifenol dan flavonoid (Prakash, 2001; Okawa *et al.*, 2001). Senyawa fenolik dan polifenol yang terkandung dalam tumbuhan memiliki banyak efek biologis termasuk aktivitas antioksidan (Thaipong *et al.*, 2006; Ling & Planisamy, 1999).

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tanaman dengan aktivitas farmakologis yang luas (Vermerris & Nicholson, 2006; Karimi *et al.*, 2011). Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatiknya (Nurhasana & Syamsudin, 2005). Senyawa fenolik juga merupakan produk alami yang memiliki sifat sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal superoksida bebas, mempunyai sifat *anti-aging* yang baik untuk mengurangi resiko terjadinya kanker (Park *et al.*, 2008).

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu tanaman asli dari Asia Tenggara, dan telah tersebar luas di daerah tropis dan subtropis di dunia (Mukherjee & Litz, 2009). Selain buah, bagian lainnya juga memiliki peranan penting, seperti bagian daunnya. Di Thailand, daun mangga sering digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, termasuk disentri dan flatulen. Di Indonesia, daun muda yang berwarna hijau kemerahan juga bisa dikonsumsi sebagai salad atau hidangan lainnya (Flach *et al.*, 1993). Di India, daun mangga muda

digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk mengobati diabetes (Sarmah & Hazarika, 2012). Mangiferin merupakan senyawa fenolik yang paling penting yang terkandung dalam daun, kulit batang, kulit buah, dan daging buah mangga, dan terdapat dalam jumlah yang besar terutama pada daun mudanya. Mangiferin diketahui memiliki banyak fungsi termasuk sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Barreto *et al.* (2008), mangiferin memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang ditunjukkan pada keempat hasil uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* (*hypoxanthine/xanthine oxidase*, DPPH, FRAP, dan ORAC).

Tumbuhan lain yang banyak digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia adalah pandan wangi. Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, polifenol, fenil propanoid, dan zat warna (Dalimartha, 2000). Senyawa polifenol dalam daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan yang potensial sehingga dapat mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, dan diabetes (Osawa, 1994; Chiabchalard & Nooron, 2014). Daun pandan wangi biasa digunakan sehari-hari dalam bentuk seduhan teh daun pandan, atau ekstraknya sebagai perasa dalam makanan. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Chiabchalard & Nooron (2014), diketahui bahwa ekstrak daun pandan mampu menurunkan kadar gula darah 10 subjek manusia sehat (*postprandial*) secara signifikan.

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan mengkombinasikan ekstrak daun mangga gadung dan daun pandan wangi dalam beberapa perbandingan. Pengujian ini diharapkan akan meningkatkan efektivitasnya dalam menangkal radikal bebas jika dibandingkan dengan aktivitas dalam bentuk tunggalnya. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ini adalah metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Metode ini dipilih karena cepat, mudah, akurat, tidak relatif mahal, dan mampu mengukur berbagai komponen yang bertindak sebagai radikal bebas atau donor dibandingkan dengan metode pengujian aktivitas antioksidan *in vitro* lainnya. Kemudian juga ditetapkan kadar fenol totalnya menggunakan metode pewarnaan folin ciocalteu. Metode ini merupakan metode termudah untuk mengukur kadar

fenol dari produk alami (Agbor *et al.*, 2005). Pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar senyawa fenol total ini ditentukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Selain itu, hasil penetapan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan dibandingkan, dan diuji secara statistik untuk mengetahui apakah ada hubungan yang bermakna antara kadar fenol total dan aktivitas antioksidan dalam bentuk tunggal ekstraknya terhadap kombinasi kedua ekstrak.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi?
2. Apakah ada perbedaan aktivitas yang bermakna antara ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi?
3. Berapakah kadar fenol total ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi dengan pengukuran menggunakan pewarnaan reagen Folin-Ciocalteu?
4. Apakah ada perbedaan kadar fenol total yang bermakna ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi?
5. Bagaimana hubungan aktivitas antioksidan dengan kadar fenol total dalam ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi.
2. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas yang bermakna antara ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi.
3. Untuk mengetahui fenol total ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi.
4. Untuk mengetahui perbedaan kadar fenol total yang bermakna antara ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi.
5. Untuk mengetahui hubungan aktivitas antioksidan dengan kadar fenol total dalam ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi.

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

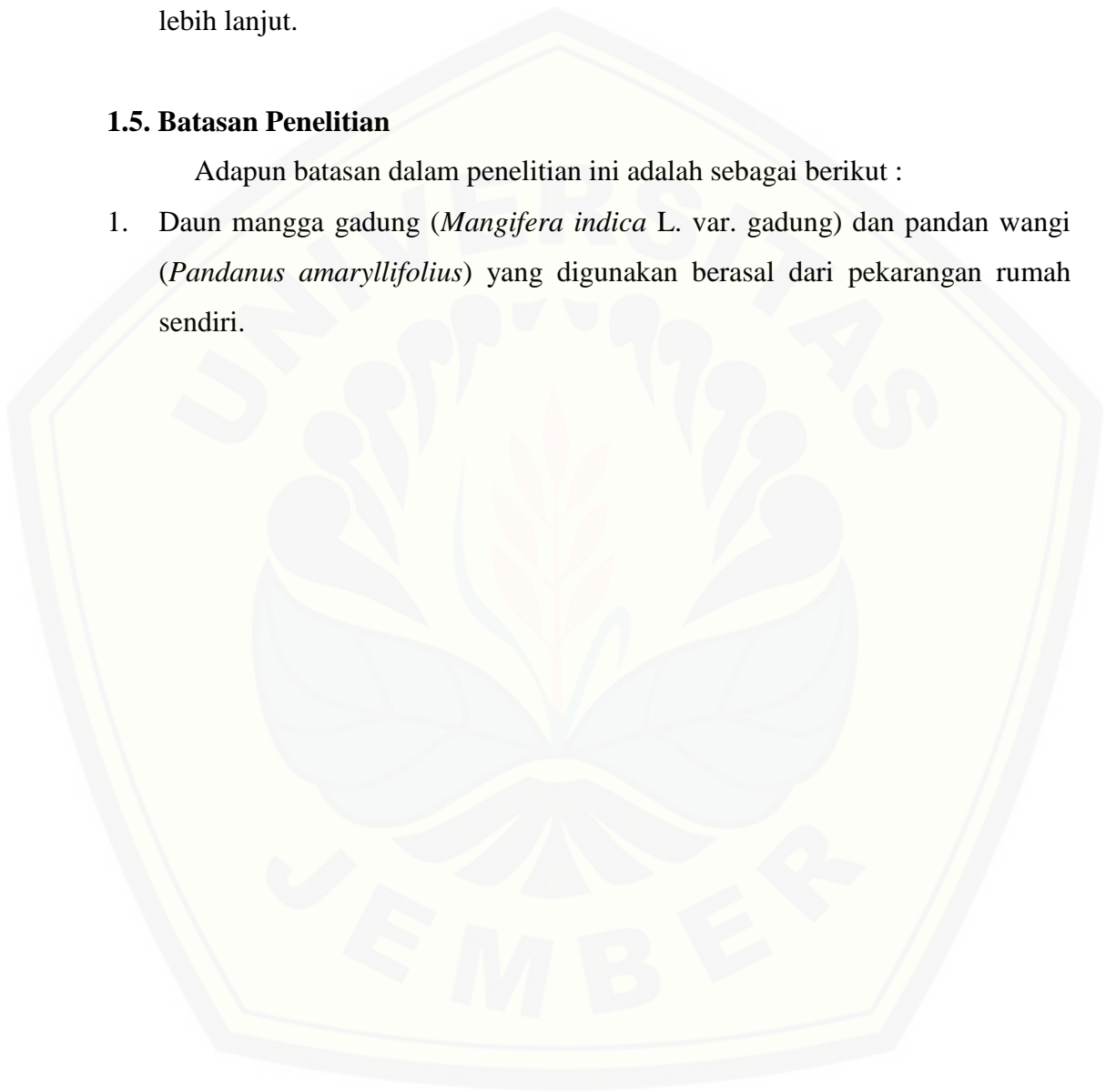
1. Memberikan informasi tentang potensi aktivitas antioksidan dan kadar fenol total kombinasi ekstrak metanol daun *Mangifera indica* L. var. gadung dan ekstrak etanol daun *Pandanus amaryllifolius*.
2. Meningkatkan nilai guna dari daun *Mangifera indica* L. var. gadung dan *Pandanus amaryllifolius*.

3. Merupakan sarana evaluasi dan informasi mengenai penggunaan tanaman sebagai sumber antioksidan alami.
4. Memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan mengenai pembuatan sediaan baru pada jalur antioksidan dan sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut.

1.5. Batasan Penelitian

Adapun batasan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Daun mangga gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung) dan pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) yang digunakan berasal dari pekarangan rumah sendiri.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Tanaman Mangga Gadung

2.1.1. Klasifikasi Mangga Gadung

Menurut *Integrated Taxonomic Information System/ITIS* (2011) tanaman mangga memiliki taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anacardiaceae
Genus	: <i>Mangifera</i>
Spesies	: <i>Mangifera indica</i> Linn.

2.1.2. Nama Daerah

Mangga kultivar Gadung sama atau bersinonim dengan Arumanis (Fitmawati *et al.*, 2009).

2.1.3. Deskripsi

Tanaman mangga (*Mangifera indica* L.) bukan merupakan tanaman asli Indonesia, tetapi berasal dari India yang terdiri dari 35-40 anggota dan suku *Anacardiaceae*. Tanaman mangga tergolong kelompok buah berdaging dengan bentuk, ukuran, warna, dan cita rasa yang beranekaragam. Tanaman mangga bisa tumbuh dengan baik di daerah dataran rendah dan berhawa panas, tetapi ada juga yang bisa tumbuh di daerah yang memiliki ketinggian hingga 600 meter di atas permukaan laut. Pohon mangga termasuk tumbuhan tingkat tinggi dengan struktur batangnya (*habitus*) termasuk kelompok *arboreus*, yaitu tumbuhan berkayu yang

mempunyai tinggi batang lebih dari 5 m. Pohon mangga bisa mencapai tinggi 10-40 m. Varietas mangga setidaknya terdapat 2.000 jenis di dunia (Bhagwat & Haytowitz, 2013).

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keragaman varietas buah mangga tertinggi. Salah satu varietas buah mangga yang memiliki potensi ekspor tinggi adalah mangga gadung, karena varietas mangga ini tidak dihasilkan oleh negara penghasil dan pengeksport mangga dunia, seperti India, Meksiko, dan negara Amerika latin lainnya (Utama *et al.*, 2011). Mangga gadung merupakan varietas mangga Probolinggo yang paling terkenal di antara mangga manalagi dan mangga golek yang juga banyak ditanam di Probolinggo (Anonim, 2007).

2.1.4. Morfologi Tanaman Mangga Gadung

Ciri-ciri fisik pohon mangga secara umum adalah batang pohon tegak, bercabang agak kuat. Kulit tebal dan kasar dengan banyak celah-celah kecil dan sisik-sisik bekas tangkai daun. Warna kulit batang yang sudah tua biasanya coklat keabuan sampai hitam (Rukmana, 1997). Daun berwarna hijau, berselang seling, dan mempunyai bentuk lonjong, memiliki panjang 15-35 cm dan lebar 6-16 cm. Daun yang masih muda biasanya berwarna kemerahan, keunguan atau kekuningan, yang kemudian akan berubah pada bagian permukaan sebelah atas menjadi hijau mengkilat, sedangkan bagian permukaan bawah berwarna hijau muda. Daun berpangkal lancip dengan tepi daun bergelombang dan ujung meruncing, dengan 12-30 tulang daun sekunder (Janick & Paul, 2008). Bunga Mangga biasanya bertangkai pendek, jarang sekali yang bertangkai panjang, dan berbau harum seperti bunga lili. Kelopak bunga biasanya bertaju lima. Buah Mangga termasuk buah batu yang berdaging, dengan ukuran dan bentuk yang sangat berubah-ubah bergantung pada macamnya, mulai dari bulat, bulat telur, hingga lonjong memanjang. Panjang buah kira-kira 2,5-3 cm. Kulit buah agak tebal berbintik-bintik kelenjar, hijau kekuningan atau kemerahan bila masak. Daging buah jika masak berwarna merah jingga, kuning, berserabut atau tidak, manis sampai masam dengan banyak air dan berbau kuat sampai lemah. Biji berwarna putih, gepeng memanjang tertutup endokarp yang tebal, mengayu dan

berserat. Biji ini terdiri dari, ada yang monoembrional dan ada pula yang poliembrional (Rukmana,1997).

Daun pohon mangga gadung berbentuk lonjong dan panjangnya dapat mencapai 45 cm. Mahkota pohonnya berbentuk kerucut terpotong dengan diameter sekitar 13 cm. Bunga berbentuk bulir ujungnya dengan panjang 1-1,5 cm, ukuran bunga kecil dan berwarna putih, dengan lima kelopak yang panjangnya 5-10 mm, apabila kelopak bunga mangga rontok, buah akan matang setelah 3-6 bulan. Apabila masak buah akan terjuntai-juntai dari dahan dengan tangkai yang panjang, ukuran buah panjang antara 10-25 cm, diameter 7-12 cm. Berat hingga 2,5 kg dan memberikan bau yang wangi. Warna buah yang masak antara warna kuning, jingga, atau merah pada bagian yang menghadap ke matahari, dan warna kuning pada bagian yang tidak menghadap ke matahari (Anonim, 2007).



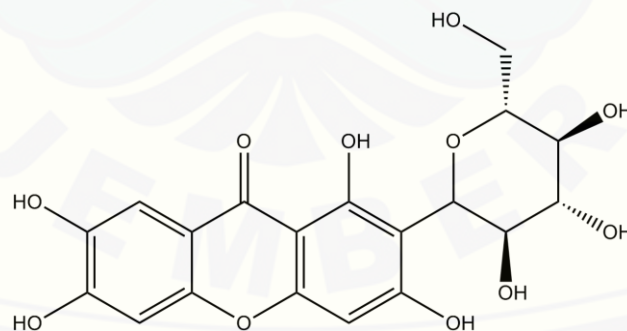
Gambar 2.1 *Mangifera indica* L. var. gadung

2.1.5. Kandungan Kimia

Menurut Somkuwar & Kamble (2013) dan Wauthoz *et al.* (2007), ekstrak daun mangga memiliki kandungan senyawa alkaloid, fitosterol, resin, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan juga senyawa mangiferin yang merupakan golongan xanton. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jutiviboonsuk & Sardsaengjun (2010), pada bagian daun *Mangifera indica* terdapat senyawa mangiferin yang merupakan senyawa flavonoid utama pada genus *Mangifera*. Sukartini & Syah

(2009) juga melaporkan dalam penelitiannya bahwa tanaman mangga mengandung senyawa kimia antosianin. Kandungan antosianin ini dapat ditemukan pada batang, kulit buah, dan daun mangga. Penelitian terhadap bagian daun *Mangifera indica* menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid seperti epikatekin, taksifolin, dan kuersetin (Kanwal *et al.*, 2010).

Mangiferin (*1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone-C2-beta-D-glucoside* adalah salah satu derivat xanton dan *C-glucosylxanthones*) dan derivatnya memiliki aktivitas antioksidan dan analgesik (karena memiliki gugus hidroksil bebas dan katekol) (Yoshimi *et al.*, 2001; Dar *et al.*, 2005). Muruganandan *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa mangiferin memiliki peran dalam perlindungan terhadap sistem imun yang dimediasi lewat penghambatan intermediet reaktif pemicu stres oksidatif pada limfosit, neutrofil, dan makrofag pada tikus percobaan. Menurut penelitian Prabhu *et al.* (2006), mangiferin dapat melindungi terhadap kerusakan jantung pada tikus dengan berpotensi sebagai antioksidan yang dapat meregulasi sistem pertahanan jaringan (enzim jaringan jantung seperti superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, aktivitas glutathion transferase dan aktivitas glutathion reduktase, antioksidan bukan enzim, seperti *cerruloplasmin*, vitamin C, vitamin E, dan kadar glutathion). Berikut ini adalah bentuk struktur kimia mangiferin :



Gambar 2.2 Struktur Kimia Mangiferin

Yoshimi *et al.* (2001) juga memaparkan bahwa mangiferin selain berpotensi sebagai antioksidan dan antivirus juga berpotensi sebagai agen pencegah kanker alamiah, dimana dalam penelitian tersebut dilakukan pengujian efek mangiferin pada usus besar tikus yang dibuat kanker (yang diinduksi oleh karsinogen kimia: *azoxy methane*). Diet mangiferin secara signifikan mampu

menghambat dan mengurangi perkembangan proliferasi sel kanker sebesar 65-85% di mukosa usus dibanding tikus yang tidak mendapat diet mengiferin.

2.2. Tinjauan Tentang Tanaman Pandan Wangi

2.2.1. Klasifikasi Pandan Wangi

Menurut Tjitrosoepomo (2002), tumbuhan pandan wangi memiliki taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Pandanales
Famili	: Pandanaceae
Genus	: <i>Pandanus</i>
Spesies	: <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.

2.2.2. Nama Daerah

Pandan wangi dikenal dengan nama berbeda di tiap daerah, di Jawa disebut pandan rampe, pandan seungit, atau pandan room. Di Sumatra disebut seuke bangu, seuke musang, pandan jau, pandan bebau, pandan harum, pandan rempai, atau pandan musang. Di Maluku disebut kela moni, ormon foni, pondak, pondakim atau pudaka. Di Bali disebut pandan arrum (Kurniawati, 2010).

2.2.3. Deskripsi

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) merupakan tanaman asli Indonesia yang berasal dari Bangka dan tersebar luas di daerah Asia Tenggara. Tanaman pandan wangi dapat dengan mudah dijumpai di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman, kebun, pekarangan rumah maupun tumbuh secara liar di tepi-tepi selokan yang teduh. Selain itu, tumbuhan ini dapat tumbuh liar di tepi sungai, rawa, dan tempat-tempat lain yang tanahnya agak lembab dan dapat tumbuh subur dari daerah pantai sampai di daerah dengan ketinggian 500 meter di atas permukaan laut (Dalimartha, 2009).

2.2.4. Morfologi Tanaman Pandan Wangi

Tanaman ini adalah tanaman perdu tahunan, memiliki tinggi 1-2 m, batang bulat dengan bekas duduk daun, bercabang, tumbuh menjalar, akar tunjang menjalar di sekitar pangkal batang dan cabang. Daun tunggal, duduk dengan pangkal memeluk batang, tersusun berbaris tiga dengan bekas duduk dalam garis spiral. Helai daun berbentuk pita, tipis, memanjang, licin, ujung runcing, tepi rata bertulang sejajar, panjang 40-80 cm, lebar 3-5 cm, berduri pada ibu tulang daun permukaan bawah bagian ujung-ujungnya, berwarna hijau, dan tersusun secara spiral (Hidayat *et al.*, 2008).



Gambar 2.3 *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

2.2.5. Kandungan Kimia

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) mengandung alkaloid seperti *norpandamarilacton A, -B, pandamarilactam-3x, -3y, pandamarilactone-1, pandamarilactonine-A, -B, -C,7 pandamarine, pandanamine* (Lopez & Notato, 2005), flavonoid seperti rutin, katekin, epikatekin, kamferol, dan narigin (Ghasemzadeh & Jaafar, 2013), kuersetin (Miean & Mohamed, 2001), karetonoid, tokoferol, tokotrienol (Lee *et al.*, 2004), terpenoid, steroid, saponin, tanin, polifenol, fenil propanoid, glikosida dan zat warna (Dalimartha, 2000; Sukandar *et al.*, 2007). Senyawa-senyawa ini berpotensi sebagai antioksidan alami. Daun

pandan wangi juga memiliki glukosa dan fruktosa yang bersifat humektan yang dapat bersifat menarik air dari udara. Kandungan karbohidrat dalam daun pandan banyak digunakan sebagai suplemen karbohidrat (Faras *et al.*, 2014).

Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik berperan penting dalam penyerapan dan penetralan radikal bebas atau menguraikan peroksida. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, farmasi, dan plastik. Antioksidan polifenol juga dapat mengurangi resiko penyakit jantung dan kanker (Osawa, 1994). Kandungan senyawa polifenol ini dapat diambil dari daun pandan menggunakan proses ekstraksi pelarut dengan pelarut etanol 96% (Agustiningsih *et al.*, 2010). Antioksidan yang dihasilkan dapat dijadikan alternatif pengganti antioksidan sintetik dalam industri makanan (Nor *et al.*, 2008).

Senyawa flavonoid juga merupakan suatu senyawa antioksidan alami dengan aktivitas biologis antara lain menghambat berbagai reaksi oksidasi, bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil. Kuersetin (3,4-dihidroksiflavonol) merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol yang memiliki sifat antioksidan yang sangat potensial. Kuersetin menunjukkan aktivitasnya dalam menghambat reaksi oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL) secara *in vitro* (Kosasih *et al.*, 2004), mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel dengan mekanisme menangkap radikal oksigen (Herowaty *et al.*, 2008).

Guzman dan Siemosna (1999) mengemukakan bahwa daun pandan wangi sedikit mengandung minyak atsiri (beberapa ppm), terdiri dari 6-42% hidrokarbon seskuiterpen dan 6% merupakan linalool monoterpen. Sukandar *et al.* (2007) melaporkan tanaman pandan wangi menghasilkan minyak atsiri yang memiliki komponen kimia 3-alil 6-metoksi fenol, 3-metil 2 (5H) furanon, dietil ester 1,2-benzenadikarboksilat, dan 1,2,3-propanetril ester asam dodekanoat.

Komponen senyawa utama yang menyebabkan aroma pada pandan wangi adalah *2-acetyl-1-pyrroline*. Tiga puluh komponen tambahan yang beraroma telah ditemukan dengan kandungan utamanya adalah heksanal, 2-heksanol, 3-metil piridin, 2-penten-1-ol, nonanal, benzaldehida dan linalool (Wakte *et al.*, 2012).

2.3. Tinjauan Tentang Radikal Bebas dan Antioksidan

2.3.1. Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya sehingga dapat bereaksi seperti dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut untuk memperoleh pasangan elektron, dan mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru (Ketaren, 2008). Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh dari luar tubuh (eksogen) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan yang telah hangus (*carbonated*). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh akan merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat, dan DNA (Vierkötter *et al.*, 2009).

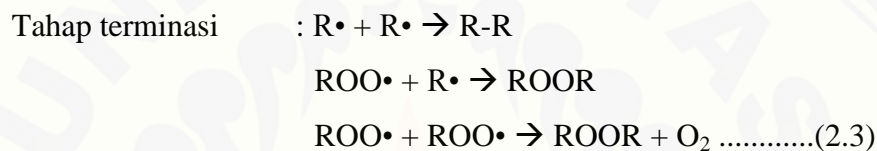
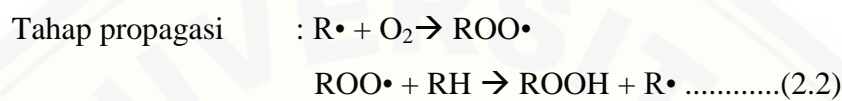
Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas (Hariyatmi, 2004). Keagresivitasan radikal bebas dalam menarik elektron menunjukkan kemiripan sifatnya dengan oksidan. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan senyawa oksidan non radikal. Hal ini berkaitan dengan tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas tersebut, yang menyebabkan terbentuknya senyawa radikal baru. Reaksi berantai radikal bebas terjadi apabila suatu senyawa radikal yang baru bertemu dengan molekul lain dan membentuk radikal baru lagi (Winarsi, 2007).

Radikal bebas disebut juga sebagai *reactive oxygen species* (ROS) atau spesies oksigen yang reaktif, suatu istilah yang mencakup semua molekul yang berisi oksigen yang sangat reaktif. ROS merupakan senyawa radikal bebas dengan atom oksigen sebagai pusatnya seperti superoksida (O_2), peroksil (ROO), alkoksil (RO), hidroksil (OH) dan nitrogen monoksida (NO) (Pietta, 2000), dan juga spesies non radikal yang berasal dari oksigen seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), dan asam hipoklorus (HOCl) (Richa, 2009).

2.3.2. Tahapan Reaksi Radikal Bebas

Reaksi radikal bebas dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Nugroho, 2007).

Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:



Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas ($\text{R}\cdot$) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan karena adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal ($\text{R}\cdot$) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi ($\text{ROO}\cdot$). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH dari suatu molekul menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007). Tanpa antioksidan, reaksi oksidasi akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks (Winarsi, 2007).

2.3.3. Definisi Antioksidan

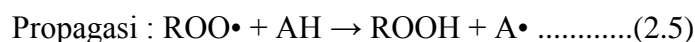
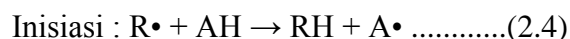
Antioksidan adalah suatu senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi suatu molekul dalam reaksi berantai (Halliwell & Whitemann, 2004; Leong & Shui, 2002). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil radikal bebas. Antioksidan

dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan antara lain β karoten, likopen, vitamin C, vitamin E (Sies, 1997; Hariyatmi, 2004).

Antioksidan pada makanan digunakan untuk mencegah atau menghambat proses oksidasi yang terjadi pada produk makanan misalnya lemak, terutama yang mengandung asam lemak tidak jenuh yang dapat teroksidasi sehingga menjadi tengik (Hamid *et al.*, 2010).

2.3.4. Mekanisme Antioksidan

Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan cara mengurangi konsentrasi oksigen, mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan menangkap radikal primer seperti radikal hidroksil, mengikat katalis ion logam, mendekomposisi produk-produk primer radikal menjadi senyawa non-radikal, dan memutus rantai hidroperoksida (Shahidi, 1997). Sesuai mekanisme kerjanya antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu mendonorkan atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogennya secara cepat ke suatu radikal bebas ($R\bullet$, $ROO\bullet$) dan mengubahnya ke bentuk yang stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($A\bullet$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal bebas tersebut. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju oksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai oksidan dengan mengubah radikal bebas ke bentuk lebih stabil (Richa, 2009). Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada suatu molekul dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan ($A\bullet$) yang terbentuk pada reaksi tersebut stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lain membentuk radikal bebas baru. Radikal-radikal antioksidan dapat saling membentuk produk non radikal. Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal bebas adalah sebagai berikut :



Menurut Haryatmi (2004), fungsi antioksidan dapat dibagi menjadi 4 tipe, yaitu:

- 1) Pemutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas, yaitu senyawa yang mampu menyumbangkan atom H, misalnya vitamin E.
- 2) Pereduksi, yaitu senyawa yang mentransfer atom H atau oksigen, misalnya vitamin C.
- 3) Pengikat ion logam, yaitu senyawa yang mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , misalnya flavonoid.
- 4) Antioksidan sekunder, yaitu suatu zat yang mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase.

Dari penelitian-penelitian sebelumnya dapat diketahui bahwa perbedaan struktur antioksidan berpengaruh terhadap daya antioksidan. Senyawa BHT dengan substituen *t*-butil pada dua posisi *ortho* dan *para*-nya menyumbang aktivitas antioksidan lebih kuat dibanding dengan BHA. Senyawa fenol tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan alami dan banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan polifenol seperti flavonoid, flavon, flavonol, dll. (Burda & Oleszek, 2001). Senyawa polifenol yang memiliki bioaktivitas ini banyak ditemukan pada senyawa *xanthone* dengan gugus isopren (Miryanti *et al.*, 2011).

2.3.5. Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetik (Inggrid & Santoso, 2014).

2.3.5.1. Antioksidan Primer atau Alami

Antioksidan golongan polifenol adalah kelompok yang paling banyak terdapat dalam buah-buahan, sayuran, tanaman polongan, biji-bijian, teh, rempah-

rempah dan anggur (Horubala, 1999; Borowska, 2003). Berikut adalah pengelompokan antioksidan primer menurut Hurrell *et al.* (2003):

1. Antioksidan mineral adalah kofaktor antioksidan enzim. Keberadaannya mempengaruhi metabolisme makromolekul kompleks seperti karbohidrat. Contoh: selenium, tembaga, besi, seng dan mangan.
2. Antioksidan vitamin, dibutuhkan untuk fungsi metabolisme tubuh. Contoh: vitamin C, vitamin E, vitamin B.
3. Fitokimia adalah senyawa fenolik, yang bukan vitamin maupun mineral. Senyawa yang termasuk ke dalam golongan fitokimia adalah senyawa flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang memberi warna pada buah, biji-bijian, daun, bunga dan kulit. Sebagai contoh di antaranya: karotenoid adalah zat warna dalam buah-buahan dan sayuran, β karoten terdapat pada wortel dan dapat dikonversi menjadi vitamin A, likopen banyak terdapat dalam tomat, dan zeaxantin banyak terdapat pada bayam.

2.3.5.2. Antioksidan Sekunder atau Sintetik

Senyawa antioksidan sintetik memiliki fungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai (Hurrell, 2003), berikut adalah contoh antioksidan sintetik: *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxyltoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydro guaretic acid* (NDGA). Antioksidan sintetik utama pada saat ini yang digunakan dalam produk makanan adalah monohidroksi atau polihidroksi senyawa fenol dengan berbagai substituen pada cincinnya (Hamid *et al.*, 2010).

2.4. Tinjauan Tentang Senyawa Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Vermerris & Nicholson, 2006). Senyawa fenol memiliki titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Selain itu juga mudah larut dalam sebagian besar pelarut organik (hidrokarbon aromatik, alkohol

dan keton) dan agak kurang larut dalam hidrokarbon alifatik. Fenol membentuk campuran azeotropik dengan air dan zat lainnya (Rappoport, 2003).

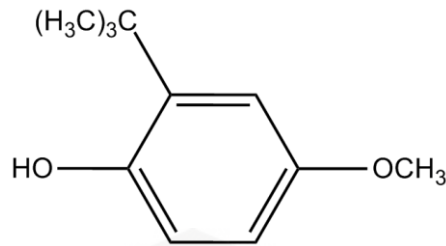
Senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil fenolik yang menempel pada satu atau lebih cincin aromatik disebut sebagai senyawa polifenol (Vermerris & Nicholson, 2006). Struktur kimia dari polifenol dapat dilihat pada Gambar 2.4. Turunan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Vermerris & Nicholson, 2006). Fenol terbagi menjadi fenol sederhana, yaitu kumarin, lignin, lignan, tannin terkondensasi, tannin terhidrolisis, asam fenolat dan flavonoid (Khoddami *et al.*, 2013).

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Sampai saat ini, minat penelitian terhadap senyawa fenolik meningkat karena kemampuan peredamannya terhadap radikal bebas. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini (Harborne & Baxter, 1993).

Fenol dan polifenol yang terkandung pada tanaman memainkan peran penting dalam kesehatan jangka panjang, mengurangi resiko penyakit kronis dan degeneratif. Senyawa fenol dapat memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik (Apak *et al.*, 2007). Selain itu juga berfungsi sebagai pertahanan terhadap radiasi ultraviolet atau perlindungan diri dari patogen, parasit, predator serta memberi warna pada tanaman (Dai & Mumper, 2010). Salah satu antioksidan alami yaitu asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat). Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Lee *et al.*, 2003).

Senyawa antioksidan alami polifenol merupakan senyawa multifungsional, dapat berfungsi sebagai (Aulia, 2009):

- a) Pereduksi atau donor elektron,
- b) Penangkap radikal bebas,
- c) Pengkelat logam, dan
- d) Peredam terbentuknya singlet oksigen.



Gambar 2.4 Struktur Kimia Polifenol

Senyawa kimia yang tergolong senyawa fenolik banyak macamnya. Salah satu metode klasifikasinya adalah berdasarkan jumlah atom karbon dalam molekulnya. Rincian klasifikasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon

Struktur	Kelas
C6	Fenolik sederhana
C6-C1	Asam fenolat dan senyawa yang berhubungan lainnya
C6-C2	Asetofenon dan asam fenilasetat
C6-C3	Asam sinamat, sinamil aldehyd, dan sinamil alkohol
C15	Kumarin, isokumarin, dan kromon
C15	Flavan
C15	Flavon
C15	Flavanon
C15	Flavanonol
C15	Antosianidin
C15	Antosianin
C30	Biflavonil
C6-C1-C6-C6-C2-C6	Benzofenon, xanton, stilben
C6, C10, C14	Kuinon
C18	Betasianin
Lignan, neolignan	Dimer atau oligomer
Lignin	Polimer
Tanin	Oligomer atau polimer
Phlobaphene	Polimer

Sumber: Vermerris & Nicholson (2006)

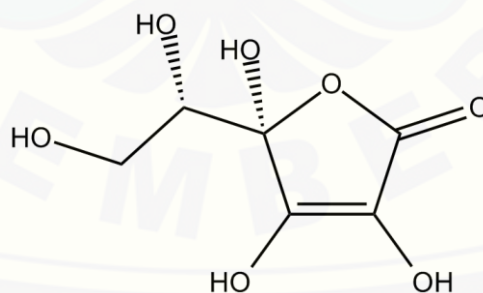
2.5. Tinjauan Umum Vitamin C

Asam askorbat atau vitamin C adalah antioksidan monosakarida yang sering ditemukan pada tumbuhan. Asam askorbat sangat penting bagi manusia karena memiliki fungsi penting sebagai kofaktor enzim dan antioksidan dengan

cara mengikat oksigen dan nitrogen radikal, mengurangi ion logam, mengurangi dan menetralkan oksigen reaktif seperti hidrogen peroksida (Anonim, 2007; Ortega, 2006). Vitamin C juga dapat membantu mempertahankan DNA, protein, lipid, enzim dan komponen tubuh penting lainnya tetap dalam keadaan normal. Selain bisa sebagai antioksidan tunggal, vitamin C juga mampu bekerja sama dengan antioksidan lainnya seperti glutation, asam lipoat, koenzim Q10, dan vitamin E agar terus bisa menjaga pasokan antioksidan dalam tubuh yang dapat melindungi sel terhadap radikal bebas (Ge *et al.*, 2008).

Selain dapat mendonorkan elektronnya ke radikal bebas, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektronnya ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel netrofil, monosit, protein lensa, dan retina. Vitamin ini juga dapat berinteraksi dengan Fe-ferritin. Di luar sel vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Winarsi, 2007).

Vitamin C bereaksi dengan radikal bebas dan mengubahnya menjadi radikal askorbil yang kurang reaktif, kemudian diubah menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Asam askorbat dapat bereaksi dengan oksigen teraktivasi seperti anion superoksida dan radikal hidroksil (Winarsi, 2007). Struktur vitamin C dapat dilihat pada Gambar 2.5.



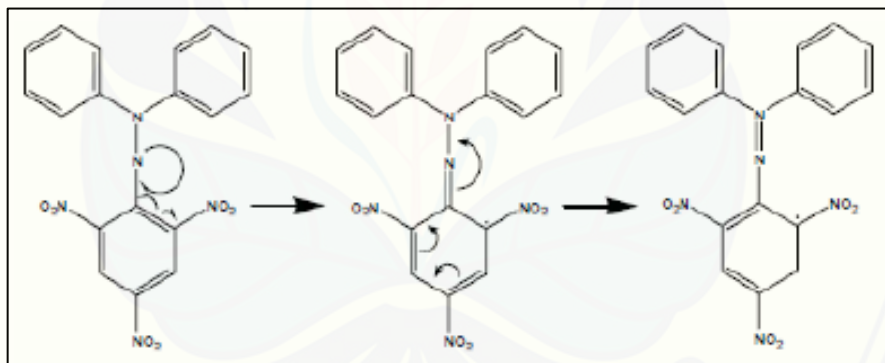
Gambar 2.5 Struktur Kimia Vitamin C

2.6. Tinjauan Umum Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Beberapa metode uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* yang sering digunakan diantaranya adalah :

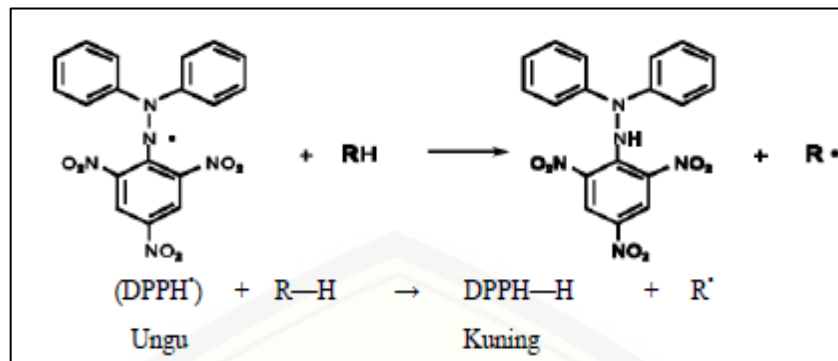
2.6.1. Metode DPPH

DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) adalah radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik, antosianin atau ekstrak kasar. Radikal bebas DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil pada suhu kamar dan larut dalam pelarut polar seperti metanol. Sifat stabil ini dikarenakan radikal bebas ini memiliki satu elektron yang didelokalisasi dari molekul utuhnya, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas lain. Delokalisasi ini akan memberikan warna ungu gelap dengan absorbansi maksimum pada 517 nm dalam larutan etanol ataupun metanol (Molyneux, 2004). Resonansi senyawa DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Resonansi pada Struktur DPPH (Schwarz *et al.*, 2001)

Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dengan reaksi $\text{:DPPH}\cdot + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}\cdot$. Metode ini tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. Warna ungu dari DPPH akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Senyawa yang aktif sebagai antioksidan mereduksi radikal bebas DPPH menjadi *difenil pikril hidrazin*. Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Schwarz *et al.*, 2001)

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH dipilih karena metode ini sangat cocok untuk skrining awal berbagai sampel terutama ekstrak tumbuhan karena hasilnya terbukti akurat, reliabel, relatif cepat, praktis, sederhana, mudah, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel, akan tetapi jumlah pelarut pengencer yang diperlukan dalam pengujian ini cukup banyak (Molyneux, 2004; Richa, 2009). Jika dibandingkan dengan metode pengujian antioksidan lain, metode ini tidak diperlukan substrat sehingga memiliki keuntungan, yaitu lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat.

Pelarut yang digunakan adalah metanol. Metanol dipilih sebagai pelarut karena metanol dapat melarutkan kristal DPPH dan juga memiliki sifat yang dapat melarutkan komponen non polar di dalamnya. Metode ini dapat bekerja secara baik dengan penggunaan pelarut metanol atau etanol, karena kedua pelarut tersebut tidak mengganggu reaksi (Guo *et al.*, 2010).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan pembanding yang digunakan adalah Vitamin C. Besarnya aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan nilai IC_{50} , yaitu besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50% absorbansi DPPH dibandingkan dengan larutan blanko. IC_{50} merupakan salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux, 2004). Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(2.6)$$

Tabel 2.2 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat aktif	< 50 ppm
Aktif	50-100 ppm
Sedang	101-150 ppm
Lemah	151-200 ppm

Sumber: Jun *et al.* (2006)

2.6.2. Metode ABTS

Asam 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonat (ABTS) merupakan substrat dari peroksidase, dimana ketika dioksidasi dengan adanya H₂O₂ akan membentuk senyawa radikal kation metastabil ABTS^{•+} dengan karakteristik warna biru kehijauan yang menunjukkan absorbansi kuat pada panjang gelombang 414 nm. ABTS merupakan senyawa larut air dan stabil secara kimia (Antolovich *et al.*, 2001).

Akumulasi dari ABTS dapat dihambat oleh antioksidan yang dihasilkan dari reaksi kimia dengan aktivitas yang bergantung pada waktu reaksi dan jumlah antioksidan. Warna biru kehijauan dari radikal kation ABTS^{•+} akan tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna. Kemampuan relatif antioksidan untuk mereduksi ABTS dapat diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm. Absorbansi maksimal juga dapat terjadi pada panjang gelombang yang lain. Panjang gelombang yang mendekati daerah infra merah (734 nm) dipilih untuk meminimalkan interferensi dari absorbansi komponen lainnya (Antolovich *et al.*, 2001; Shivaprasad *et al.*, 2005).

2.6.3. Metode TRAP

Prinsip pengujian TRAP atau *Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter* didasarkan pada pengukuran konsumsi oksigen selama reaksi oksidasi lipid terkontrol yang diinduksi oleh dekomposisi termal dari AAPH (2,2'-Azobis(2-aminodopropana)hidroklorida) untuk mengukur total aktivitas antioksidan. Hasil uji ini diinterpretasikan sebagai jumlah (dalam mikromol) radikal peroksil yang terperangkap oleh 1 liter plasma. Pengukuran serum TRAP

berdasarkan penentuan lamanya waktu yang diperlukan oleh serum uji untuk dapat bertahan dari oksidasi buatan (Antolovich *et al.*, 2001).

2.6.4. Metode FRAP

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) bekerja berdasarkan reduksi dari analog ferroin, kompleks Fe^{3+} dari tripiridiltriazin $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{3+}$ menjadi kompleks $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{2+}$ yang berwarna biru intensif oleh antioksidan pada suasana asam. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan dapat dinyatakan sebagai jumlah Fe^{2+} (dalam mikromolar) ekuivalen dengan antioksidan standar (Antolovich *et al.*, 2001).

2.6.5. Metode Xantin Oksidase

Adanya antioksidan diukur dari persentase penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase. Enzim ini memproduksi asam urat dengan adanya radikal superoksida dari xantin. Hasil pengukuran diinterpretasikan dalam jumlah asam urat yang kemudian diukur pada panjang gelombang 292 nm (Shivaprasad *et al.*, 2005).

2.6.6. Metode Kekuatan Pereduksi

Metode ini didasarkan pada prinsip peningkatan absorbansi dari reaksi kimia. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Pada metode ini senyawa antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferisiania, *trichloro acetic acid* dan besi klorida, yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Meningkatnya absorbansi dari reaksi campuran menunjukkan pengurangan kekuatan sampel (Shivaprasad *et al.*, 2005).

2.6.7. Aktivitas Penghambatan Radikal Superoksida

Aktivitas peredaman radikal superoksida secara *in vitro* diukur dengan reduksi dari riboflavin/cahaya/NBT (Nitro biru tetrazolium). Metode ini didasarkan pada pembentukan radikal superoksida secara auto-oksidasi dari

riboflavin dengan adanya cahaya. Radikal superoksida mereduksi NBT menjadi formazon berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 550 nm. Kapasitas ekstrak atau sampel untuk menghambat warna sampai 50% dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (Antolovich *et al.*, 2001; Shivaprasad *et al.*, 2005).

2.6.8. Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil ekstrak atau sampel secara langsung berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Metode ini melibatkan pembentukan secara *in vitro* dari radikal hidroksil (OH•) dari pereaksi Fenton yang direaksikan dengan Fe³⁺, askorbat, EDTA, dan H₂O₂. Pada salah satu metode radikal hidroksil, radikal hidroksil yang terbentuk secara oksidasi dibuat untuk bereaksi dengan DMSO (*dimethyl sulphoxide*) untuk menghasilkan formaldehida. Formaldehida yang terbentuk menghasilkan warna kuning yang intens dengan reagen Nash (amonium asetat 2 M dengan asam asetat 0,05 M dan aseton asetil 0,02 M dalam aquadest). Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 412 nm dengan spektrofotometri terhadap blanko negatif. Aktivitas ini dinyatakan sebagai % penghambatan radikal hidroksil (Shivaprasad *et al.*, 2005).

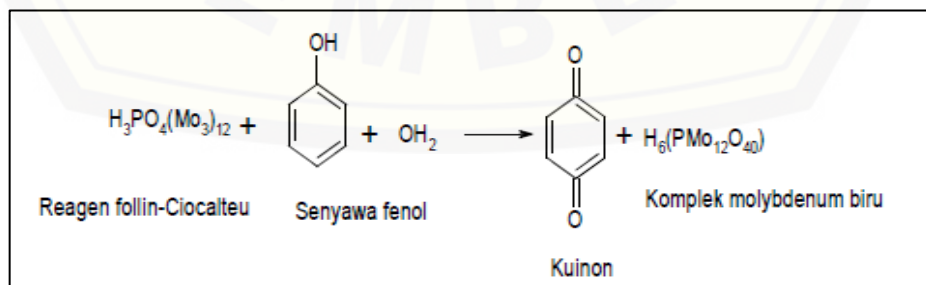
2.6.9. Aktivitas Penghambatan Radikal Oksida Nitrat

Oleh karena oksida nitrat memiliki elektron yang tidak berpasangan, maka diklasifikasikan sebagai radikal bebas dan menunjukkan reaktivitas yang penting dengan jenis tertentu dari protein dan radikal bebas lainnya. Penghambatan secara *in vitro* dari radikal oksida nitrat juga diukur sebagai aktivitas antioksidan. Metode ini didasarkan pada inhibisi dari pembentukan radikal oksida nitrat yang dihasilkan dari natrium nitroprusid dalam dapar garam dan diukur dengan pereaksi Griess. Dengan adanya penghambatan, absorbansi dari kromofor diukur pada panjang gelombang 546 nm. Aktivitas ini ditunjukkan sebagai % reduksi dari oksida nitrat (Shivaprasad *et al.*, 2005).

2.7. Metode Penetapan Kadar Fenol Total dengan Reagen Folin-Ciocalteu

Reaksi antara senyawa fenolik dengan reagen Folin-Ciocalteu merupakan reaksi reduksi-oksidasi (Tursiman *et al.*, 2012). Reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning merupakan campuran dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat (asam heteropoli). Ketika senyawa fenolik dalam ekstrak sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu akan terjadi pembentukan senyawa kompleks. Senyawa ini berwarna biru yang dapat diukur dengan cahaya tampak pada spektrofotometri UV-Vis. Senyawa fenol akan mereduksi senyawa molibdat dan tungstat dalam Folin-Ciocalteu membentuk larutan kromofor yang berwarna biru (Tursiman *et al.*, 2012), dimana penyerapan maksimum gugus kromofor tergantung pada larutan alkali dan konsentrasi senyawa fenolik (Blainski, 2013). Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik, maka semakin banyak ion fenolat yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton & Rosi, 1965). Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol dapat dilihat pada Gambar 2.8.

Penambahan Na_2CO_3 pada uji fenolik bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin oleh gugus hidroksil dari fenolik dalam sampel (Singleton & Rosi, 1965; Nely, 2007). Senyawa fenolik ketika bereaksi dengan natrium karbonat akan menghasilkan ion fenolat, kemudian ion fenolat mereduksi asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat membentuk kompleks molibdenum-tungsten. Metode ini memiliki kelebihan diantaranya relatif cepat, ekonomis, sederhana (Khoddami *et al.*, 2013), dan penampakan warnanya lebih baik (Rita, 2006).



Gambar 2.8 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan fenol (Tursiman, 2012)

2.8. Tinjauan Umum Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati ataupun simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Ekstrak dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu ekstrak kasar (*total extracts*) dan ekstrak murni (*purified extracts*). Ekstrak kasar adalah ekstrak yang mengandung semua bahan yang tersari dengan menggunakan pelarut organik, sedangkan ekstrak murni adalah ekstrak yang diperoleh dengan menyari simplisia menggunakan pelarut selektif dan atau dengan menghilangkan senyawa-senyawa inert melalui berbagai metode setelah penyarian pertama (ekstrak kasar), seperti dengan proses penghilangan lemak, penyaringan menggunakan resin atau adsorben (Wijesekara, 1991; Bonati, 1991). Faktor-faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak antara lain, kualitas bahan baku yang digunakan, jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel bahan, suhu proses ekstraksi, pH ekstrak dan metode pemurniannya (Endardjo, 1999; Windono & Sutarjadi, 2002).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dan dapat dilakukan dengan berbagai cara. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi meliputi tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut (Harborne, 1987; Depkes RI, 1986). Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Harborne, 1984).

Ekstraksi menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Harborne, 1987). Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain harganya murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, dan tidak mempengaruhi zat aktif yang

memiliki efek farmakologis. Jenis pelarut juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Wijesekera, 1991). Jenis pelarut yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Pelarut polar akan cenderung lebih melarutkan senyawa yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa yang non polar atau disebut dengan “*like dissolves like*”.

Berdasarkan fase yang terlibat, terdapat dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Pada ekstraksi padat-cair terjadi pemindahan komponen dari padatan ke cairan/pelarut melalui tiga tahapan, yaitu difusi pelarut ke pori-pori padatan, pelarutan solut oleh pelarut di dalam pori tersebut, dan pemindahan larutan dari pori menjadi larutan ekstrak. Proses ekstraksi padat-cair dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain waktu ekstraksi, suhu yang digunakan, pengadukan, dan banyaknya pelarut yang digunakan (Harborne, 1996).

Menurut Depkes POM (2000) metode ekstraksi dapat dibagi menjadi :

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar.

- b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena:

- Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- Ruang antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C.

d. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90⁰C selama 15 menit.

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100⁰C.

Pemilihan metode ekstraksi menjadi titik kritis sebelum melakukan proses ekstraksi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor meliputi sifat dari bahan mentah yang akan diekstraksi, daya penyesuaian dengan tiap macam

metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989). Menurut Harborne (1996), dengan adanya pemanasan dapat meningkatkan kemampuan ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal. Namun Sie (2013) dalam penelitiannya menduga bahwa ekstraksi dengan cara panas dapat merusak senyawa yang bekerja sebagai antioksidan, karena pada umumnya senyawa antioksidan tidak tahan terhadap pemanasan. Dugaan ini dikuatkan dari hasil penelitiannya yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna dari daya antioksidan hasil ekstraksi cara dingin dengan cara panas, yaitu nilai IC_{50} ekstrak dengan cara dingin lebih kecil dibandingkan dengan IC_{50} ekstrak dengan cara panas.

2.9. Spektrofotometri UV-Vis

Teknik spektroskopi adalah salah satu teknik analisis fisis-kimia yang mengamati tentang interaksi antara atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Teknik analisis spektroskopi menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja & Suharman, 1995). Radiasi elektromagnetik panjang gelombang 380-780 nm merupakan radiasi yang dapat diterima oleh panca indera mata manusia, sehingga dikenal sebagai cahaya tampak (visibel), sedangkan diluar rentang panjang gelombang cahaya tampak, REM sudah tidak dapat ditangkap oleh panca indera. Ada tiga macam distribusi elektron di dalam suatu senyawa organik secara umum yang selanjutnya dikenal sebagai orbital elektron pi (π), sigma (σ) dan elektron tidak berpasangan (n) (Mulja & Suharman, 1995).

Senyawa yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor, yaitu gugus dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus kromofor akan mengabsorpsi radiasi sinar ultraviolet dan cahaya tampak jika diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Gugus auksokrom yaitu gugus yang mempunyai elektron *non bonding* (n) dan tidak menyerap radiasi UV jauh contohnya -OH, -NH₂, -NO₂, -X

(Harmita, 2006; Harmita *et al.*, 2006). Terikatnya gugus auksokrom pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Sastrohamidjojo, 2001).

Metode spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif. Analisis kuantitatif dilakukan dengan pembuatan kurva kalibrasi atau menggunakan rumus *Lambert-Beer*, sedangkan analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan panjang gelombang maksimum, serapan, daya serap, persen ekstingsi dan spektrum serapannya (Harmita, 2006; Harmita *et al.*, 2006).

Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis selalu melibatkan pembacaan absorban radiasi elektromagnetik oleh molekul atau radiasi elektromagnetik yang diteruskan. Kedua hal tersebut dikenal sebagai absorban (A) tanpa satuan atau transmittan dengan satuan persen (%T). Apabila suatu larutan mendapat radiasi berupa sinar polikromatik, yaitu sinar yang terdiri atas beberapa macam warna (polikromatis), maka hanya sinar dengan panjang gelombang tertentu yang diserap (I_a), sedangkan sinar dengan panjang gelombang lain diteruskan (I_t) melalui larutan tersebut. Warna yang diteruskan sebenarnya adalah warna larutan tersebut, sedangkan warna komplementer dari warna itu tidak diteruskan atau yang diserap, yaitu warna seperti yang terlihat oleh mata (I_r) (Sudarmadji *et al.*, 1996), sehingga didapatkan persamaan :

$$I_0 = I_t + I_r + I_a \dots\dots\dots(2.7)$$

Dari persamaan di atas, dengan harga $I_r \pm 4\%$ dapat diabaikan karena pengerjaan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dipakai larutan pembanding sehingga persamaan 2.2 dapat disederhanakan seperti berikut :

$$I_0 = I_t + I_a \dots\dots\dots(2.8)$$

Pengukuran serapan sampel dapat dilakukan dengan perhitungan *Lambert-Beer* sebagai berikut :

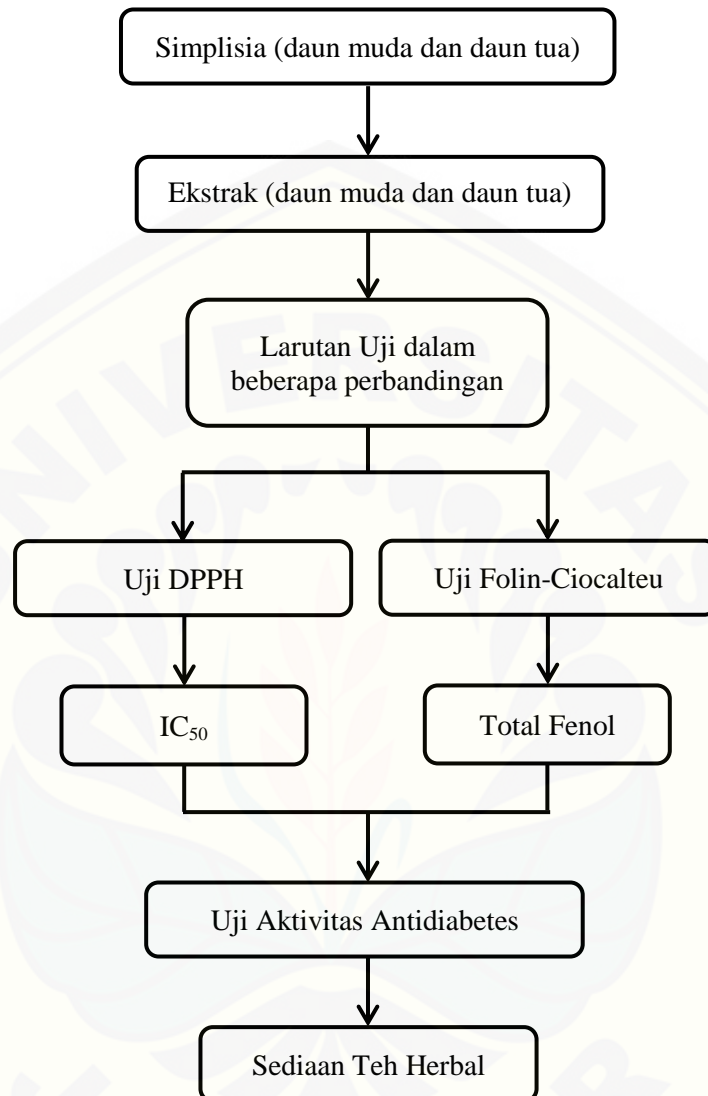
$$A = \frac{\log I_0}{\log I_t} = \epsilon \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c \dots\dots\dots(2.9)$$

dimana :

- A = serapan
- a = daya serap
- b = tebal lapisan zat yang menyerap sinar (cm)
- c = kadar (g/L)
- ϵ = absorpsivitas molekuler (mol.cm.L^{-1})
- I_0 = Intensitas sinar datang
- I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

Berdasarkan hukum *Beer* tersebut, absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi, karena b memiliki harga 1 cm maka dapat dapat diabaikan, dan a merupakan suatu tetapan. Artinya semakin tinggi konsentrasi, maka absorbansi yang dihasilkan juga semakin tinggi, begitupun sebaliknya semakin rendah konsentrasi, maka absorbansi yang dihasilkan semakin rendah. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A \approx C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A \leq 0,8$).

2.10. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.11 Kerangka Konsep

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *True Experimental Laboratories*.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember mulai dari ekstraksi hingga analisis sampel. Waktu pelaksanaannya mulai Maret sampai dengan Agustus 2016.

3.3. Bahan dan Alat

3.3.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah: daun mangga gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung), daun pandan wangi (*Pandanus amarylifollius* Roxb.), standar asam galat (sigma-aldrich), difenilpikrilhidrazil/DPPH (sigma-aldrich), vitamin C, larutan folin ciocalteu (merck), Na_2CO_3 (teknis), metanol (teknis), etanol 96%, dan aquadest. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga gadung dan daun pandan wangi yang diperoleh dari pekarangan rumah sendiri, setelah bahan uji dikumpulkan dilakukan determinasi sampel tanaman di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember.

3.3.2. Alat

Alat yang digunakan adalah: Spektrofotometer Hitachi U-1800, seperangkat alat gelas, botol ekstrak cair, kertas saring, maserator, batang pengaduk, cawan penguap, neraca digital, neraca analitik, *rotary evaporator*, *blender*, spatula, lemari pendingin, mikropipet, *ball filler*, *stopwatch*, *ultrasonic cleaner*, aluminium foil, pipet tetes, vial, dan kuvet.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah spesies dan umur daun mangga dan daun pandan, dan ekstrak metanol daun mangga dan ekstrak etanol daun pandan dalam berbagai konsentrasi yang digunakan.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dan kadar fenol total ekstrak sampel.

3.4.3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara ekstraksi bahan, cara pengujian aktivitas antioksidan, dan cara penetapan kadar fenol total.

3.5. Definisi Operasional Penelitian

1. Daun yang digunakan adalah daun yang berkembang sempurna.
2. Ekstrak metanol adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia yang diserbuk kemudian diekstraksi secara remaserasi dengan metanol.
3. Ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia yang diserbuk kemudian diekstraksi secara remaserasi dengan etanol 96%.
4. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam warna DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .

3.6. Ekstraksi Sampel

Daun mangga gadung dan pandan wangi segar disortasi basah, ditimbang masing-masing sebanyak 1 kg, kemudian dicuci dengan air mengalir dan didiamkan selama semalam, kemudian baru dirajang atau dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan, tidak terkena sinar matahari langsung selama 3 hari. Daun yang telah diangin-anginkan dimasukkan ke dalam oven suhu 40°C-50°C untuk pengeringan akhir dan disortasi kering. Simplisia dihaluskan dengan cara digiling menggunakan *blender*.

Serbuk daun mangga gadung dan pandan wangi masing-masing ditimbang sejumlah 100 g kemudian dimaserasi menggunakan metanol untuk daun mangga gadung dan etanol 96% untuk daun pandan wangi sebanyak dua kali di dalam maserator. Perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1:10 (b/v). Maserat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotavapor* suhu 50⁰C hingga diperoleh ekstrak cair, selanjutnya dikeringkan dalam oven hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen. Ekstrak ini disimpan dalam lemari pendingin untuk pengujian selanjutnya.

3.7. Formulasi Kombinasi Ekstrak

Dalam penelitian ini dibuat 5 formulasi kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi dengan beberapa perbandingan yang berbeda. Berikut adalah formulasi kombinasi ekstrak metanol mangga gadung dan ekstrak etanol pandan wangi yang digunakan dalam penelitian ini:

Tabel 3.1 Formulasi kombinasi ekstrak

No.	Perbandingan ekstrak metanol daun mangga gadung : ekstrak etanol daun pandan wangi	Aktivitas Antioksidan		Fenol Total	
		Berat ekstrak metanol daun mangga gadung (gram)	Berat ekstrak etanol daun pandan wangi (gram)	Berat ekstrak metanol daun mangga gadung (mg)	Berat ekstrak etanol daun pandan wangi (mg)
1	1 : 0	0,150	-	25,0	-
2	2 : 1	0,100	0,050	16,4	8,6
3	1 : 1	0,075	0,075	12,5	12,5
4	1 : 2	0,050	0,100	8,6	16,4
5	0 : 1	-	0,150	-	25,0

Dari masing-masing formulasi di atas kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total.

3.8. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

3.8.1. Pembuatan Larutan Uji

a. Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung

Ditimbang 150 mg ekstrak metanol daun mangga gadung dimasukkan ke dalam labu 25 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 6000 µg/ml. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan uji akhir yaitu 3 µg/ml, 6 µg/ml, 9 µg/ml, 14,4 µg/ml, 21,6 µg/ml dan 28,8 µg/ml.

b. Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi

Ditimbang 150 mg ekstrak etanol daun pandan wangi dimasukkan ke dalam labu 25 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 6000 µg/ml. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan uji akhir yaitu 30 µg/ml, 60 µg/ml, 90 µg/ml, 120 µg/ml, 180 µg/ml dan 240 µg/ml.

c. Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

Ditimbang 100 mg ekstrak metanol daun mangga gadung dan 50 mg ekstrak etanol daun pandan wangi, dimasukkan ke dalam labu 25 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 6000 µg/ml. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan uji akhir yaitu 6 µg/ml, 18 µg/ml, 24 µg/ml, 36 µg/ml, 60 µg/ml dan 90 µg/ml.

d. Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

Ditimbang 75 mg ekstrak metanol daun mangga gadung dan 75 mg ekstrak etanol daun pandan wangi, dimasukkan ke dalam labu 25 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 6000 µg/ml. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan uji akhir 6 µg/ml, 18 µg/ml, 24 µg/ml, 36 µg/ml, 60 µg/ml dan 90 µg/ml.

e. Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

Ditimbang 50 mg ekstrak metanol daun mangga gadung dan 100 mg ekstrak etanol daun pandan wangi, dimasukkan ke dalam labu 25 ml, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji 6000 $\mu\text{g/ml}$. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan uji akhir 6 $\mu\text{g/ml}$, 18 $\mu\text{g/ml}$, 24 $\mu\text{g/ml}$, 36 $\mu\text{g/ml}$, 60 $\mu\text{g/ml}$ dan 90 $\mu\text{g/ml}$.

3.8.2. Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml sebagai larutan induk 1 dan 40 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml sebagai larutan induk 2. Kemudian dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi vitamin C sebesar 1000 ppm dan 4000 ppm. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan vitamin C akhir yaitu 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, dan 30 $\mu\text{g/ml}$.

3.8.3. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang 2 mg serbuk DPPH dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat ulang.

3.8.4. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebelum pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan dulu penentuan panjang gelombang maksimum yaitu dengan mengambil 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM, kemudian ditambahkan 0,3 ml metanol. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400–800 nm.

3.8.5. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji ekstrak dan pembanding (vitamin C) direaksikan dengan larutan DPPH dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

3.8.6. Penetapan Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Vitamin C

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 0,3 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan vitamin C dimasukkan tabung reaksi, ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogenkemudian larutan uji dan larutan vitamin C diinkubasi pada suhu ruang sesuai dengan optimasi waktu inkubasinya. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya.

3.8.7. Perhitungan

Perhitungan aktivitas antiradikal bebas ditentukan dari persen peredaman warna ungu dari larutan DPPH pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ peredaman DPPH} = 1 - \left(\frac{A \text{ hitungan bahan uji}}{A \text{ hitungan DPPH}} \right) \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Dari data yang diperoleh, dibuat kurva baku antara konsentrasi larutan uji (sebagai absis) dengan peredaman DPPH (sebagai ordinat), kemudian dibuat persamaan regresinya yaitu:

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

Dimana : y = persen peredaman DPPH

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

Kemudian dimasukkan nilai $y = 50$ sehingga diperoleh IC_{50} dari larutan uji yang merupakan konsentrasi efektif untuk meredam aktivitas radikal bebas larutan DPPH sebesar 50%.

3.9. Penetapan Kadar Fenol Total

3.9.1. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak metanol daun mangga gadung, ekstrak etanol daun pandan wangi, dan berbagai kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi ditimbang masing-masing sebanyak 25 mg. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dengan 5 ml metanol, kemudian diencerkan dengan aquadest sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak 1000 $\mu\text{g/ml}$.

3.9.2. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 25 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan dengan 5 ml metanol, kemudian diencerkan dengan aquadest sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan aquadest sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan standar asam galat akhir yaitu 50 $\mu\text{g/ml}$, 75 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, dan 300 $\mu\text{g/ml}$.

3.9.3. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Sebelum Penetapan kadar fenol total, dilakukan dulu penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dengan reagen folin-ciocalteu. Larutan standar asam galat 300 μl dengan konsentrasi 75 $\mu\text{g/mL}$ ditambah dengan 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 1,2 ml larutan Na_2CO_3 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 75 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan

spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400–800 nm.

3.9.4. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji ekstrak konsentrasi 1000 µg/mL dan pembanding (asam galat) konsentrasi 75 µg/mL sebanyak 300 µl ditambah dengan 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 1,2 ml larutan Na₂CO₃ 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

3.9.5. Penetapan Kadar

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan cara 300 µl dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan standar ditambah dengan 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan didiamkan selama 3 menit. Setelah 3 menit, ditambahkan 1,2 ml Na₂CO₃ 7,5%. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimumnya.

3.9.6. Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar fenol total yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mgGAE/g ekstrak).

3.10. Rancangan Penelitian

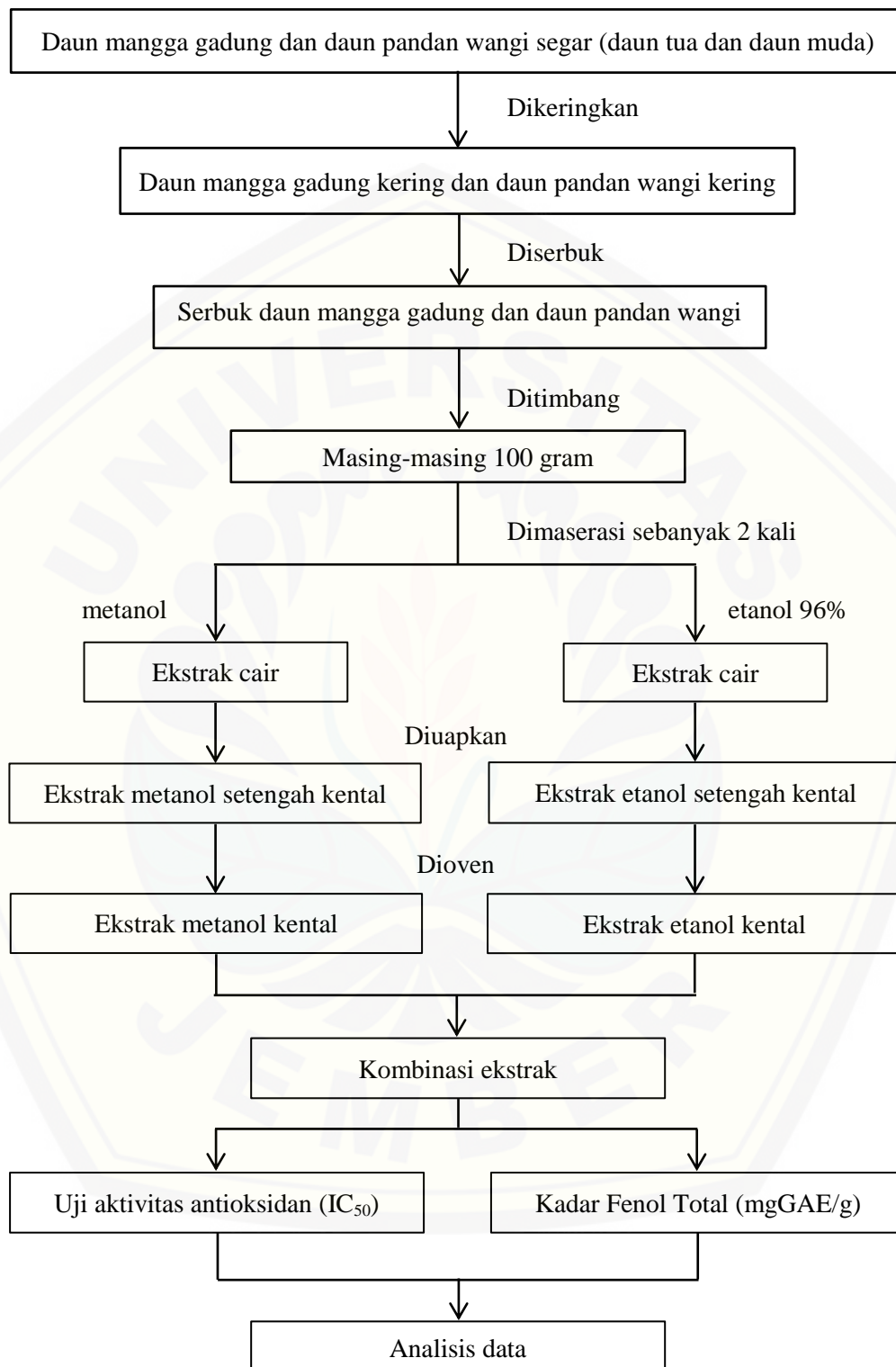
3.10.1. Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total ekstrak metanol daun mangga gadung, ekstrak etanol daun pandan wangi, dan kombinasi ekstrak keduanya. Tahap pertama dilakukan ekstraksi sampel hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak kental yang diperoleh

beserta kombinasinya dan vitamin C sebagai kontrol positif. Setelah pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan penetapan kadar fenol total dari masing-masing ekstrak dan kombinasinya. Hasil aktivitas antioksidan dibandingkan antara masing-masing ekstrak dan kombinasinya. Hasil penetapan kadar fenol total juga dibandingkan antara masing-masing ekstrak dan kombinasinya. Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD).



3.10.2. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

3.11. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji aktivitas antioksidan dibandingkan antara masing-masing ekstrak dari tiap formulasi dan vitamin C. Penetapan kadar fenol total dibandingkan antara daun mangga gadung, daun pandan wangi, dan kombinasi keduanya. Selanjutnya dilakukan uji statistik aktivitas antioksidan menggunakan *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc*. Perbedaan dianggap bermakna apabila $p\text{-value} \leq 0,01$ dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Bahan

Tahap pertama dalam proses ekstraksi daun mangga gadung dan daun pandan wangi yaitu dengan melakukan sortasi basah dari masing-masing sampel tumbuhan. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya seperti tanah, kerikil, rumput, bagian tumbuhan yang rusak, dan pengotor lainnya. Selanjutnya dilakukan pencucian daun mangga dan daun pandan dengan air mengalir. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain yang melekat dan mengurangi jumlah mikroba. Setelah dicuci, masing-masing daun dirajang yang bertujuan untuk mempermudah proses pengeringan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang terbuka dan tidak terkena sinar matahari langsung selama beberapa hari. Hal ini bertujuan agar kandungan kimia yang terdapat dalam simplisia tidak rusak akibat pemanasan. Kemudian proses pengeringan dilanjutkan dengan mengoven tanaman pada suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air di dalam simplisia agar mencegah pertumbuhan jamur dan mikroba dan kandungan kimia yang memiliki aktivitas tidak berubah karena proses fermentasi, serta menghentikan reaksi enzimatik sel tumbuhan. Selain itu, pengeringan ini akan mempermudah pada proses penghalusan simplisia menjadi serbuk. Sebelum dihaluskan, simplisia disortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor lain yang masih ada. Proses selanjutnya yaitu dilakukan penghalusan, hal ini bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga akan mempercepat kelarutan senyawa ke dalam pelarut pengesktrak.

Ekstraksi dilakukan dengan cara remaserasi, yaitu dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan filtrasi maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Remaserasi dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak karena senyawa aktif yang tertinggal dari penyaringan maserat awal akan diekstraksi kembali oleh pelarut yang baru. Selain itu, metode remaserasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut dengan cara dingin, sehingga tidak

memerlukan pemanasan yang dapat merusak zat aktif dalam daun mangga gadung dan pandan wangi. Oleh karena itu, metode ekstraksi ini dipilih untuk ekstraksi sampel (Harborne, 1987). Masing-masing serbuk daun mangga gadung dan daun pandan wangi ditimbang kurang lebih sebanyak 100 gram. Kemudian serbuk dimaserasi sebanyak 2 kali menggunakan metanol untuk serbuk daun mangga gadung dan etanol 96% untuk serbuk daun pandan wangi dengan perbandingan jumlah serbuk dan pelarut adalah 1:10. Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan alami atau senyawa fenolik umumnya bersifat polar sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar. Metanol dan etanol merupakan pelarut yang paling umum digunakan untuk mengekstrak komponen antioksidan karena polaritasnya dan kemampuannya melarutkan komponen antioksidan seperti senyawa polar golongan fenol (Margaretta *et al.*, 2011; Przybylski *et al.*, 1998). Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung dan dinyatakan dalam nilai persen rendemen. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran B. Rendemen adalah perbandingan antara bobot ekstrak yang diperoleh dengan bobot simplisia awal (Depkes RI, 2000). Persen rendemen ekstrak hasil ekstraksi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil ekstraksi sampel

Sampel	Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	% Rendemen
Ekstrak metanol daun mangga gadung	103,54 gram	21,69 gram	20,95%
Ekstrak etanol daun pandan wangi	102,12 gram	11,90 gram	11,65%

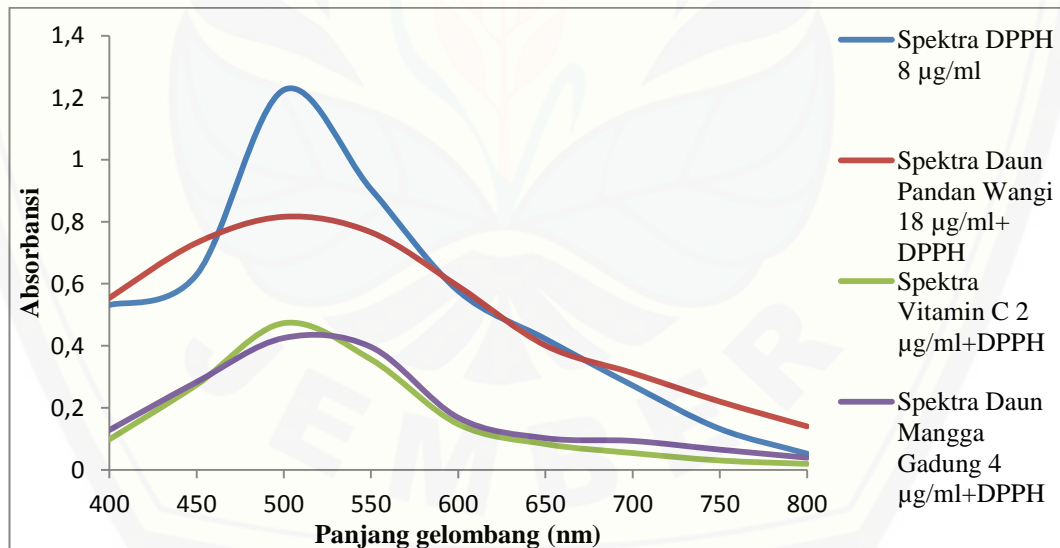
% Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak/berat simplisia serbuk x 100%

Dari hasil ekstraksi tersebut diketahui bahwa persen rendemen ekstrak metanol daun mangga gadung lebih besar dibanding ekstrak etanol daun pandan wangi. Perbedaan ini bisa disebabkan oleh karena faktor perbedaan jenis tanaman dan jumlah kandungan senyawa yang dapat larut dalam pelarut pengekstrak masing-masing tanaman.

4.2. Pengujian Aktivitas Antioksidan

4.2.1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan *scanning* panjang gelombang maksimum terlebih dahulu. Pengukuran panjang gelombang maksimum ini dilakukan dengan mengukur absorbansi DPPH dan absorbansi DPPH yang direaksikan dengan sampel dan standar. Panjang gelombang maksimum DPPH yang terpilih adalah 513 nm, karena menghasilkan absorbansi yang maksimum. Menurut Molyneux (2004) panjang gelombang penetapan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah 515-520 nm. Berdasarkan hasil yang diperoleh meskipun tidak memenuhi kriteria panjang gelombang di atas, tetapi perbedaannya tidak signifikan. Hal ini dikarenakan jenis kompartemen sampel yang digunakan bisa menghasilkan perbedaan absorbansi larutan. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Lampiran D.1 dan Gambar 4.1.



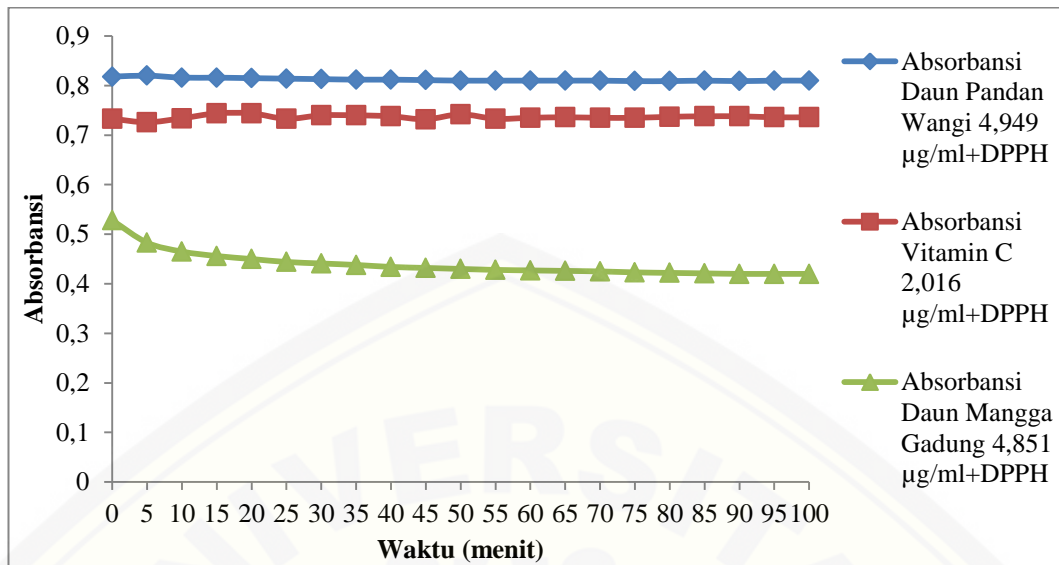
Gambar 4.1 Spektra DPPH vs Sampel

Pada penetapan panjang gelombang maksimum di atas digunakan konsentrasi 4 µg/ml ekstrak metanol daun mangga gadung dan 18 µg/ml ekstrak etanol daun pandan wangi karena konsentrasi ini termasuk dalam konsentrasi yang digunakan dalam seri konsentrasi penetapan IC_{50} . Apabila konsentrasi yang

digunakan sama maka akan lebih mudah untuk melihat penurunan absorbansi setelah DPPH ditambahkan ke dalam ekstrak. Hasil pada Gambar 4.1 menunjukkan penurunan absorbansi setelah DPPH ditambahkan ke dalam ekstrak dan standar.

4.2.2. Penentuan Waktu Inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dilakukan untuk mendapatkan waktu inkubasi optimum sampel dan pembanding. Waktu inkubasi optimum menandakan bahwa masing-masing sampel atau pembanding telah bereaksi sempurna dengan DPPH. Larutan uji ekstrak dan pembanding (vitamin C) direaksikan dengan larutan DPPH dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 513 nm mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit. Waktu inkubasi dikatakan optimum jika reaksi telah mencapai kondisi tunak atau membentuk plateau (Molyneux, 2004). Waktu inkubasi yang didapatkan dari hasil optimasi yaitu menit ke-30 untuk pembanding (vitamin C), menit ke-90 untuk ekstrak metanol daun mangga gadung, dan menit ke-50 untuk ekstrak etanol daun pandan wangi. Reaksi optimal antara sampel atau pembanding dengan DPPH ditandai dengan absorbansi yang tidak mengalami penurunan atau persen peredaman yang tidak mengalami peningkatan secara bermakna. Untuk penentuan waktu inkubasi kombinasi ekstrak dipilih waktu inkubasi yang paling lama, yaitu menit ke-90, karena ekstrak etanol daun pandan wangi yang memiliki waktu inkubasi optimum pada menit ke-50 dikatakan masih dalam kondisi tunak pada menit ke-90. Tabel waktu (menit) dan absorbansi yang dihasilkan dapat dilihat pada Lampiran H. Hubungan waktu dan absorbansi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hubungan waktu terhadap absorbansi

4.2.3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengukuran dilakukan dengan mereaksikan 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM dengan 0,3 ml larutan uji sehingga akan diperoleh persen peredaman radikal bebas. Konsentrasi ekstrak maupun perbandingan setelah direaksikan diplotkan dengan persen peredaman, selanjutnya akan didapatkan nilai IC_{50} . Hasil regresi linier menunjukkan adanya korelasi yang baik antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai r yang mendekati 1 dan semua nilai r hitung sampel uji dan perbandingan $> r$ tabel dengan signifikansi 0,01. Persamaan regresi dan nilai R^2 yang diperoleh dari kelima kombinasi ekstrak dan perbandingan dari ketiga replikasi dapat dilihat pada Lampiran I.

Semakin besar persen peredaman DPPH sampel, maka semakin kecil nilai IC_{50} , hal ini menandakan bahwa aktivitas antioksidan semakin besar. Dari perhitungan yang telah dilakukan didapatkan nilai IC_{50} yang ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil perhitungan IC_{50} kelima perbandingan kombinasi ekstrak

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	SD	RSD (%)
Vitamin C	2,599	2,613	0,021	0,801
	2,603			
	2,637			
Ekstrak daun mangga gadung tunggal	3,257	3,263	0,009	0,282
	3,259			
	3,274			
Ekstrak daun pandan wangi tunggal	39,303	39,700	1,033	2,603
	40,873			
	38,923			
Kombinasi M : P Perbandingan 2 : 1	7,514	7,483	0,039	0,524
	7,439			
	7,496			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 1	13,564	13,392	0,157	1,175
	13,357			
	13,255			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 2	10,858	10,951	0,084	0,762
	10,978			
	11,018			

Keterangan : M = Ekstrak daun mangga gadung; P = Ekstrak daun pandan wangi

Dari nilai rata-rata IC_{50} yang ditunjukkan pada tabel tersebut, diketahui bahwa nilai IC_{50} terendah yaitu vitamin C dengan nilai IC_{50} sebesar 2,613 $\mu\text{g/ml}$, diikuti dengan ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal sebesar 3,263 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan kombinasi 2:1 sebesar 7,483 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan kombinasi 1:2 sebesar 10,951 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan kombinasi 1:1 sebesar 13,392 $\mu\text{g/ml}$ dan ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal sebesar 39,700 $\mu\text{g/ml}$. Artinya pada konsentrasi tersebut larutan uji dapat meredam DPPH sebesar 50%.

Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan antioksidannya karena hanya dengan konsentrasi yang kecil sudah mampu meredam radikal bebas (DPPH) sebanyak 50%. Nilai IC_{50} yang didapat menunjukkan bahwa kelima perbandingan kombinasi ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibandingkan vitamin C. Namun, kelima perbandingan kombinasi ekstrak tergolong antioksidan yang sangat aktif seperti vitamin C karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$. Suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat aktif

apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$, aktif untuk nilai IC_{50} di antara 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang apabila nilai IC_{50} antara 100-150 $\mu\text{g/ml}$, dan lemah apabila nilai IC_{50} antara 151-200 $\mu\text{g/ml}$ (Zuhra *et al.*, 2008).

Berdasarkan perolehan nilai IC_{50} diketahui bahwa dari ke semua perbandingan kombinasi ekstrak, ekstrak tunggal daun mangga gadung memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar. Hal ini dikarenakan ekstrak metanol daun mangga gadung mengandung senyawa mangiferin yang merupakan senyawa flavonoid utama pada genus *Mangifera* (Jutiviboonsuk & Sardsaengjun, 2010). Selain mangiferin, tanaman mangga juga mengandung senyawa kimia antosianin, dimana kandungan antosianin ini dapat ditemukan pada batang, kulit buah, dan daun mangga (Sukartini & Syah, 2009). Seperti yang telah diketahui kedua senyawa tersebut merupakan golongan senyawa fenolik (Vermerris & Nicholson, 2006) yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Apak *et al.*, 2007).

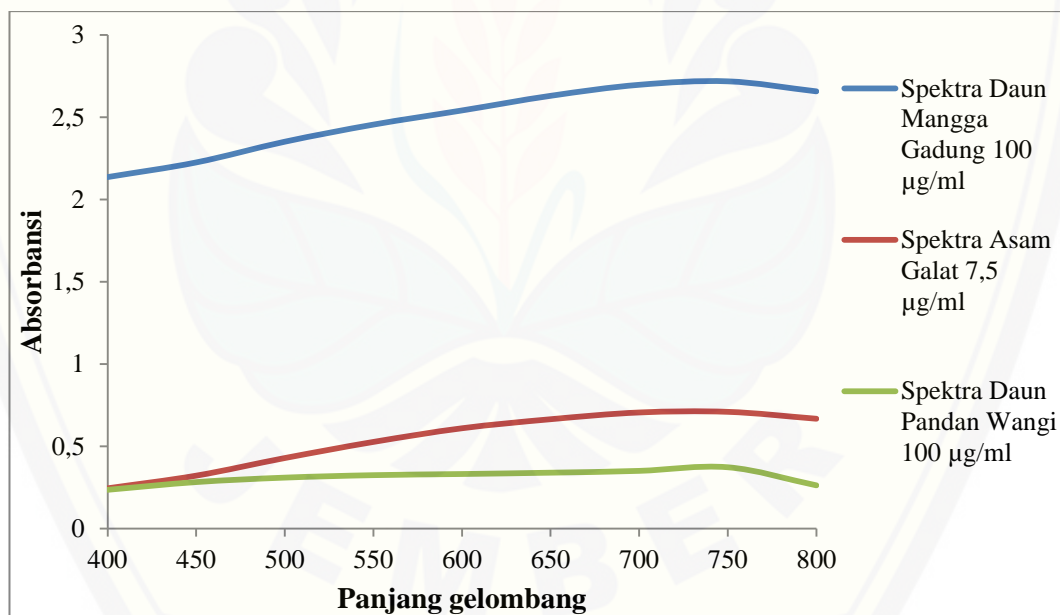
Hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada masing-masing perbandingan kombinasi dan pembanding, dilihat dari besarnya signifikansi pada uji anova (0,000) yang lebih kecil dari nilai $\alpha 1\%$ (nilai $p < 0,01$). Untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan dilakukan uji LSD (*Least Significance Different*). Hasilnya adalah ada perbedaan yang signifikan pada setiap sampel perbandingan kombinasi ekstrak, ditunjukkan dari semua nilai signifikansi lebih kecil dari nilai $\alpha 1\%$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada masing-masing perbandingan kombinasi ekstrak maupun dengan pembanding (vitamin C). Hasil uji anova dan *post hoc* (LSD) aktivitas antioksidan (IC_{50}) dapat dilihat pada Lampiran R.1.

4.3. Pengukuran Kadar Fenol Total

4.3.1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Besarnya kandungan fenol ditunjukkan dengan peningkatan intensitas warna biru dari Folin-Ciocalteu yang bereaksi dengan fenol sehingga meningkatkan absorbansi yang setara dengan jumlah fenol dalam larutan sampel. Senyawa molibdat dan tungstat dalam Folin-Ciocalteu akan direduksi menjadi

senyawa kromofor berwarna biru (Tursiman *et al.*, 2012) jika bereaksi dengan fenol. Pengukuran panjang gelombang maksimum ini dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel dan standar setelah direaksikan dengan Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 7,5%, dan aquadest. Asam galat yang digunakan pada pengukuran memiliki konsentrasi 7,5 $\mu\text{g/ml}$ karena pada konsentrasi tersebut menghasilkan absorbansi yang tidak terlalu tinggi maupun rendah. Konsentrasi masing-masing ekstrak yang digunakan adalah 100 $\mu\text{g/ml}$ karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang digunakan untuk penetapan kadar fenol total. Panjang gelombang maksimum yang dipilih adalah 735 nm karena menghasilkan absorbansi maksimum. Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Lampiran K.1 dan Gambar 4.3. Panjang gelombang terpilih ini digunakan untuk pengukuran kadar fenol total.

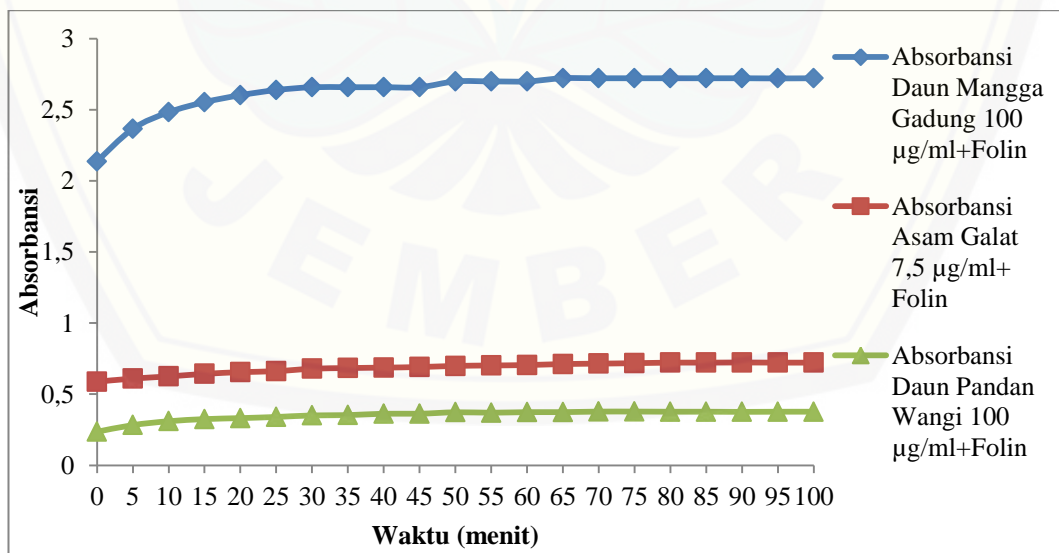


Gambar 4.3 Spektra Asam Galat dan Sampel

4.3.2. Penentuan Waktu Inkubasi

Tujuan penentuan waktu inkubasi ini yaitu memilih waktu inkubasi optimum untuk sampel bereaksi dengan Folin-Ciocalteu secara sempurna. Larutan uji ekstrak dan standar asam galat direaksikan dengan Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 7,5%, dan aquadest. Selanjutnya diamati absorbansi pada panjang gelombang 735

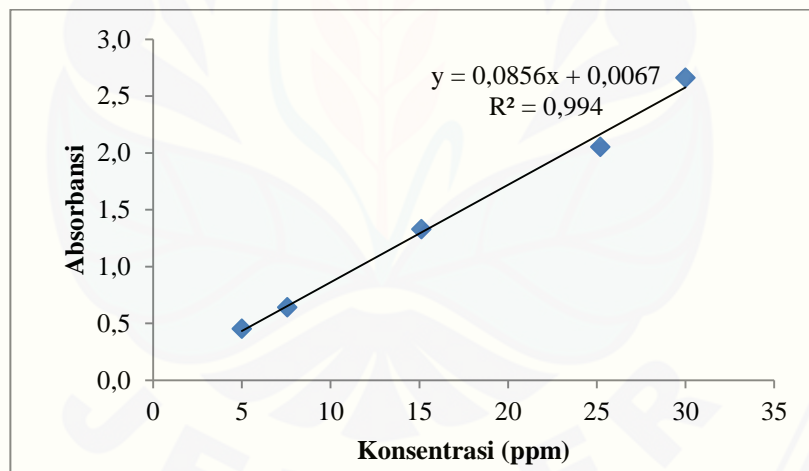
nm mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit. Asam galat yang digunakan memiliki konsentrasi 7,5 $\mu\text{g/ml}$ karena pada konsentrasi tersebut berada di tengah dari absorbansi deret seri standar asam galat. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk penentuan waktu inkubasi masing-masing 100 $\mu\text{g/ml}$ karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang digunakan untuk penetapan kadar fenol total. Waktu reaksi dikatakan optimum jika tidak ada peningkatan absorbansi yang signifikan dari sampel maupun pembanding setelah direaksikan dengan Folin-Ciocalteu yang menandakan bahwa reaksi telah berhenti atau sempurna. Dari hasil penentuan waktu inkubasi optimum untuk pembanding (asam galat) adalah menit ke-80, menit ke-65 untuk ekstrak metanol daun mangga gadung, dan menit ke-70 untuk ekstrak etanol daun pandan wangi. Untuk penentuan waktu inkubasi kombinasi ekstrak dipilih waktu inkubasi yang paling lama, yaitu menit ke-70, karena ekstrak etanol daun mangga gadung yang memiliki waktu inkubasi optimum pada menit ke-65 dikatakan masih dalam kondisi tunak pada menit ke-70. Tabel waktu (menit) dan absorbansi yang dihasilkan dapat dilihat pada Lampiran O. Hubungan waktu inkubasi dan absorbansi dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hubungan waktu dan absorbansi

4.3.3. Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan perbandingan asam galat yang telah direaksikan pada panjang gelombang 735 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan diplotkan dengan konsentrasi sehingga didapatkan kurva kalibrasi standar asam galat $y = 0,0856x + 0,0067$, dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan konsentrasi asam galat. Absorbansi asam galat yang dihasilkan dapat dilihat pada Lampiran K.2. Kurva standar asam galat yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.5. Asam galat dipilih sebagai standar dalam penetapan kadar fenol total karena asam galat merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Selain itu, pemilihan asam galat ini didasarkan atas ketersediaan substansi yang stabil dan murni. Asam galat sebagai standar yang paling sering digunakan sebagai standar dalam penetapan kadar fenol total ekstrak tumbuhan.



Gambar 4.5 Kurva standar asam galat

Penetapan kadar fenol total kombinasi ekstrak kelima perbandingan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan uji ekstrak masing-masing perbandingan kombinasi yang telah direaksikan seperti standar asam galat. Selanjutnya, nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam kurva kalibrasi standar asam galat. Kadar fenol total dalam sampel diinterpretasikan dalam miligram ekuivalen asam galat per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Perhitungan

kadar fenol total dapat dilihat pada Lampiran P. Hasil pengukuran kadar fenol total dari yang terbesar hingga terkecil dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil penetapan kadar fenol total kelima perbandingan kombinasi ekstrak

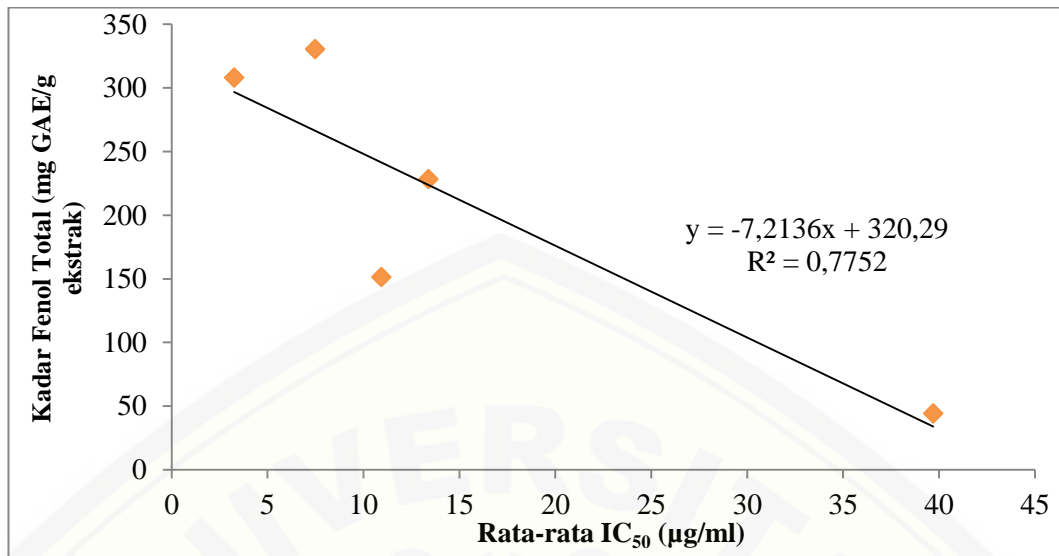
Sampel	Kadar Fenol Total (mg GAE/g ekstrak, n=3)
Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal	307,982±5,386 ^a
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal	44,244±0,122 ^b
Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)	330,216±5,778 ^c
Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)	228,176±2,778 ^d
Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)	151,355±0,459 ^e

Keterangan : Data disajikan rata-rata ± SD, notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna antar sampel ($p < 0,01$)

Berdasarkan data pada tabel tersebut menunjukkan bahwa kadar fenol total yang terbesar adalah kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi (2:1), kemudian disusul oleh ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, kombinasi 1:1, kombinasi 1:2, dan yang memiliki kadar fenol total yang terkecil adalah ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal.

4.4. Hubungan Kadar Fenol Total dengan Aktivitas Antioksidan

Hubungan nilai kadar fenol total kombinasi ekstrak dengan nilai IC_{50} ditunjukkan pada Gambar 4.6. Persamaan regresi yang dihasilkan menunjukkan korelasi antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

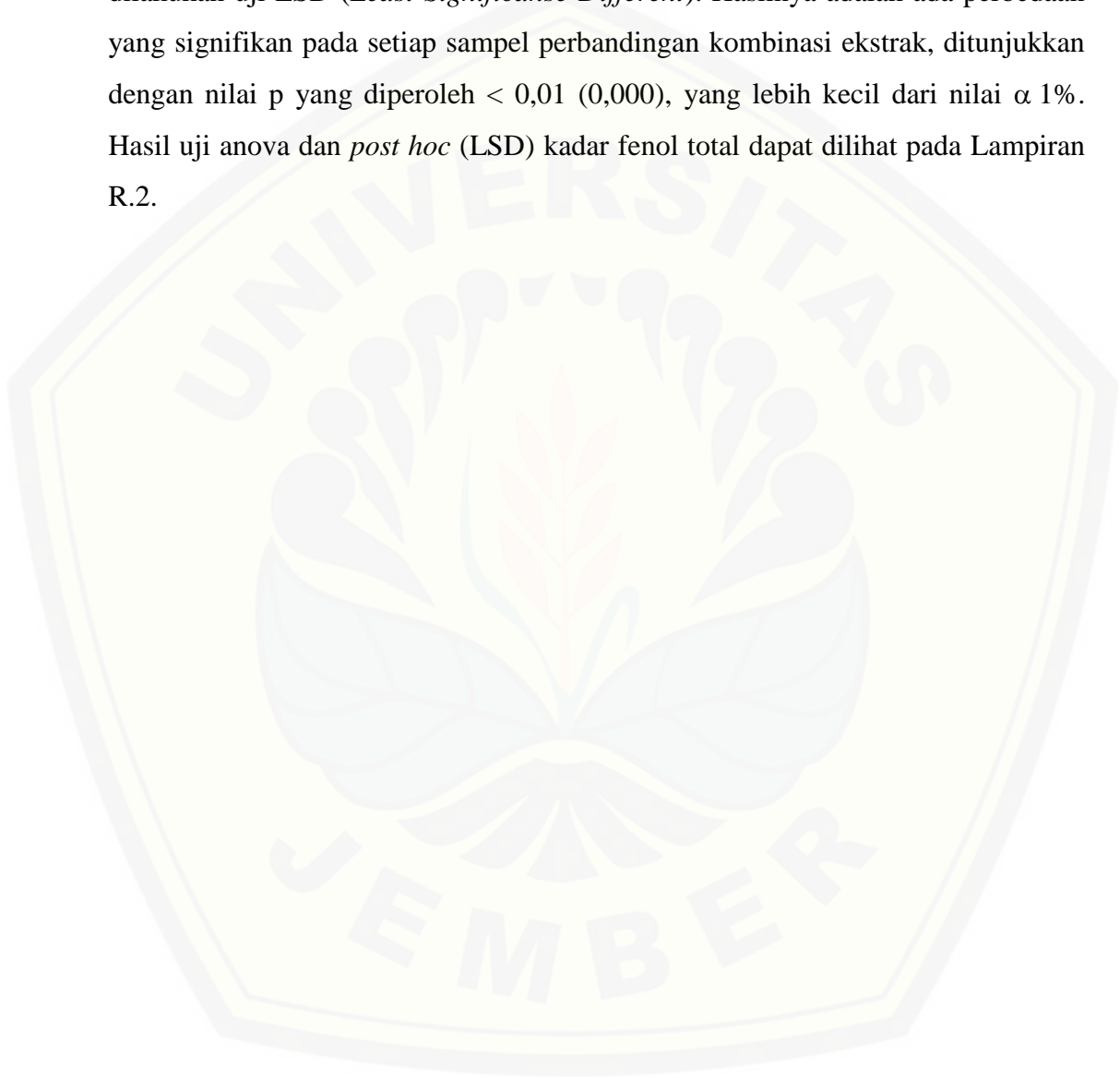


Gambar 4.6 Kurva hubungan antara IC₅₀ dengan fenol total kelima perbandingan kombinasi

Berdasarkan hasil dari regresi linier diketahui bahwa hubungan antara IC₅₀ (y) dan kadar fenol total (x) kombinasi ekstrak mempunyai koefisien korelasi $R^2 = 0,7752$. Nilai korelasi ini menjelaskan bahwa kadar fenol total yang terkandung dalam tiap perbandingan ekstrak tidak menentukan besarnya aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Kadar fenol kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi (2:1) lebih besar dibanding ekstrak tunggal metanol daun mangga gadung yang memiliki aktivitas antioksidan paling besar di antara perbandingan yang lain. Hal ini dikarenakan aktivitas antioksidan tidak hanya diperankan oleh senyawa fenol. Pada ekstrak tunggal daun mangga gadung juga mengandung senyawa lain yang lebih besar dibanding kombinasinya dengan ekstrak daun pandan wangi, seperti mangiferin yang merupakan golongan flavonoid. Golongan flavonoid lainnya dalam ekstrak daun mangga seperti epikatekin, taksifolin, dan kuersetin (Kanwal et al., 2010) juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Seperti yang telah diketahui, kuersetin (3,4-dihidroksiflavanol) yang juga terkandung dalam ekstrak daun pandan wangi merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol yang memiliki sifat antioksidan yang sangat potensial. Kuersetin menunjukkan aktivitasnya dalam menghambat reaksi oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL) secara *in vitro*

(Kosasih *et al.*, 2004), mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel dengan mekanisme menangkap radikal oksigen (Herowati, 2008).

Hasil uji anova untuk kadar fenol total menunjukkan bahwa signifikansi atau nilai p adalah 0,000. Untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan dilakukan uji LSD (*Least Significance Different*). Hasilnya adalah ada perbedaan yang signifikan pada setiap sampel perbandingan kombinasi ekstrak, ditunjukkan dengan nilai p yang diperoleh $< 0,01$ (0,000), yang lebih kecil dari nilai α 1%. Hasil uji anova dan *post hoc* (LSD) kadar fenol total dapat dilihat pada Lampiran R.2.



BAB 5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan berikut :

1. Nilai IC_{50} untuk ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal sebesar $3,263 \pm 0,009$ $\mu\text{g/ml}$, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal sebesar $39,700 \pm 1,033$ $\mu\text{g/ml}$, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi pada perbandingan 2:1 sebesar $7,483 \pm 0,039$ $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:1 sebesar $13,392 \pm 0,157$ $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:2 sebesar $10,951 \pm 0,084$ $\mu\text{g/ml}$.
2. Terdapat perbedaan aktivitas (IC_{50}) yang bermakna antara ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi pada tiap perbandingan.
3. Kadar fenol total untuk ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal sebesar $307,982 \pm 5,386$ mg GAE/g ekstrak, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal sebesar $44,244 \pm 0,122$ mg GAE/g ekstrak, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi pada perbandingan 2:1 sebesar $330,216 \pm 5,778$ mg GAE/g ekstrak, perbandingan 1:1 sebesar $228,176 \pm 2,778$ mg GAE/g ekstrak, perbandingan 1:2 sebesar $151,355 \pm 0,4589$ mg GAE/g ekstrak.
4. Terdapat perbedaan kadar fenol total yang bermakna antara ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal, dan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi pada tiap perbandingan.
5. Kombinasi ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar dari kelima perbandingan kombinasi tidak dihasilkan dari kadar fenol total yang paling besar.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan pemisahan antara daun muda dan daun tua yang diduga memiliki kadar fenol total yang berbeda secara signifikan yang juga mempengaruhi linieritas aktivitas antioksidannya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai fraksinasi dan penetapan kadar flavonoid total dari kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung) dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vivo* kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, G. A., Oben, J. E., Ngogang, J. Y., Cai Xinxing, Vinson, J. A. 2005. Antioxidant capacity of some herbs/spices from Cameroon: A comparative study of two methods. *J Agric Food Chem*. Vol. 53: 6819–6824.
- Agustiningsih, Wildan, A., & Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb.) Secara Maserasi Terhadap Kadar Fenolik dan Flavonoid Total. *Momentum*. Vol. 6(2): 36-41.
- Ahmad, A & Patong, Rauf. 2006. Aktivitas antikanker senyawa bahan alam kurkumin dan analognya pada tingkat molekuler. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. Vol. 14(2): 159.
- Alfian, R., & Susanti, H. 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 2(1): 73-80.
- Amin, M. N, Dewan, S. M. R., Noor, W., Shahid-Ud-Daula, A. F. M. 2013. Characterization of chemical groups and determination of total phenolic content and in-vitro antioxidant activities of ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves growing in Bangladesh. *Euro J Exp Bio*. Vol. 3: 449–454.
- Anonim. 2007. *Buku Pintar Tanaman Hias*. PT. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV diterjemahkan oleh Ibrahim, F. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. 2002. Methods for Testing Antioxidant Activity. *Analyst*. Vol. 127: 183-198.
- Apak *et al.* 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPRAC Assay. *Molecules*. Vol. 12: 1496-1547.
- Aulia, I. P. 2009. Efek Minyak Atsiri Cabe Jawa terhadap Jumlah Limfosit Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Barreto *et al.* 2008. Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera*

- indica*L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 56: 5599-5610.
- Bhagwat, S., & Haytowitz, D. B. 2013. *USDA Database for The Flavonoid Content of Selected Foods Release 3.2*. Beltsville, Maryland: U.S. Department of Agriculture.
- Blainski, A., Lopes, G., & de Mello, J. 2013. Application and Analysis of The Folin Ciocalteu Method for The Determination of The Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. Vol. 18: 6852-6865.
- Bonati, A. 1991. *Formulation of plant extracts into dosage forms*. In *The medicinal plants industry*. USA. CRC Press.: 107-113.
- Borowska, J. 2003. Fruits and Vegetables as Source of Natural Antioxidants. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*. Vol. 1: 11-12.
- Burda, S., & Oleszek, W. 2001. J. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Agric. Food. Chem.* Vol. 49: 2774-2779.
- Chiabchalard, A. & Nooron, N. 2014. Antihyperglycemic Effects of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Leaf Extract. *Pharmacognosy Magazine*. Vol. 11(41).
- Dai, J., & Mumper, R. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. Vol. 15: 7313-7352.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: Trobus Agriwidya.
- Dalimartha, S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 6*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Dar *et al.* 2005. Analgesic and Antioxidant Activity of Mangiferin and Its Derivatives: The Structure Activity Relationship. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. Vol. 28(4): 596-600.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Vol VI. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Endardjo, S. 1999. Efisiensi Teknologi dalam pengembangan obat tradisional /fitofarmaka. Prosiding Seminar Tanaman Obat Indonesia XV. Bogor : 1-10.
- Faras, A. F., Wadkar, S. S., & Ghosh, J. S. 2014. Effect of Leaf Extract of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. on Growth of *Escherichia coli* and *Micrococcus (Staphylococcus) aureus*. *International Food Research Journal*. Vol. 21(1): 421-423.
- Flach, A., Branch, C., & Branch, J. 1993. The Indonesian Mango [online]. Available at: <http://rfcarchives.org.au/Next/Fruits/Mango/IndonesianMango9-93.htm> [Diakses 25 Juli 2016].
- Fitmawati, Hartana, A., & Purwoko, B. S. 2009. Taksonomi Mangga Budidaya Indonesia dalam Praktik. *Jurnal Agronomi Indonesia*. Vol. 37(2).
- Ge, *et al.* 2008. The Cholesterol Absorption Inhibitor Ezetimibe Acts by Blocking The Sterol-Induced Internalization of NPC1L1. *Cell Metab.* Vol. 7(6): 508-19.
- Ghasemzadeh, A., & Jaafar, H. Z. E . 2013. Profiling of Phenolic Compounds and Their Antioxidant and Anticancer Activities in Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Extracts from Different Locations of Malaysia. *BMC Complement Altern Med.* Vol. 13: 341.
- Guo, J. T., Lee, H. L., Chiang, S. H., Lin, F.I., & Chang, C. Y. 2001. Antioxidant Properties of The Extracts from Different Parts of Broccoli in Taiwan. *J. Food Drug Anal.* Vol. 9(2): 96-101.
- Guzman, C. C., & Siemosma, S. S. 1999. *Plant Resources Of South-East Asiano.13, spices*. Netherland: Backhuys Publisher, Leiden.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. 2004. Measuring Reactive Species and Oxidative Damage *In Vivo* and in Cell Culture: How Should You Do it and What Do The Results Mean?. *Br J Pharmacol.* Vol. 142(2): 231-55.
- Hamid, *et al.* 2010. Antioxidants: Its Medicinal and Pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. Vol. 4(8): 142-151.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods, 2nd Edition*. London: Chapman and Hall publications.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Harborne, J. B., & Baxter, H. 1993. *Phytochemical Dictionary "A handbook of Bioactive Compounds from Plants"*. London: Taylor and Francis Ltd.

- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Bandung: ITB.
- Hariyatimi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia. *Jurnal MIPA*. Universitas Muhammadiyah Surakarta Vol. 14: 52-60.
- Harmita. 2006. *Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Harmita, *et al.* 2006. *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Herowaty, R., Rahman, E. K., Ketut, I. K., Nuraini, H., & Tutus, G. K. 2008. Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin-3-monoasetat. Hasil Asetilasi Selektif Kuersetin. *Artocarpus*. Vol. 8(2): 60-67.
- Hidayat, S., Wahyuni, S., & Andalusia, S. 2008. *Seri Tumbuhan Obat Berpotensi Hias (1)*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Horubala, A. 1999. Antioxidant Capacity and Their Changes in Fruit and Vegetables Processing. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*. Vol. 3: 30-31.
- Hurrell, R. F., Reddy, M. B., Juillerat, M. A., & Cook, J. D. 2003. Degradation of Phytic Acid in Cereal Porridges Improves Iron Absorption by Human Subjects. *Am J Clin Nutr*. Vol. 77(5): 1213-9.
- Inggrid, H. M., & Santoso, H. 2014. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*. Parahyangan: Universitas Katolik Parahyangan.
- ITIS report. 2016. *Mangifera indica* L. <http://www.itis.gov>. [online]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=28803. [30 April 2016].
- Janick, J., & Paul, R. E. 2008. *The Encyclopedia of Fruits and Nuts*. Cambridge: CABI.
- Jun, M., Fu, H. Y., Hong, J., Wan, X., & Ho, C. T. 2003. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria lobate ohwi*). *The Journal of Food Science*. Vol. 68(6): 2117-2122.
- Jutiviboonsuk, A., & Sardsaengjun, C. 2010. Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties. *IJPS*. Vol. 6(3): 122-129.

- Kanwal, Q., Hussain, H., Siddiqui, H. L., & Javaid, A. 2010. Antifungal Activity of Flavonoids Isolated from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves. *Natural Product Research*. Vol. 24(20): 1907-1914.
- Karimi, E., Jaafar, H. Z. E., Ahmad, S. 2011. Phytochemical analysis and antimicrobial activities of methanolic extracts of leaf, stem and root from different varieties of *Labisa pumila* Benth. *Molecules*. Vol. 16: 4438–4450.
- Ketaren, S. 2008. *Pengantar Teknologi Pengolahan Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI-Press.
- Khoddami, A., Wilkes, M., & Robert, T. 2013 Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. Vol. 18: 2328-2375.
- Kosasih, E. N., Setiabudhi, T., & Heryanto, H. 2004. *Peranan Antioksidan pada Lanjut Usia*. Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia.
- Kurniawati, Nia. 2010. *Sehat dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*. Bandung : P.T Mizan Pustaka.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D. O., Lee, H. J., Lee, C. Y. 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. Vol. 51: 6516–20.
- Lee, B. L., Su, J., & Ong, C. N. 2004. Monomeric C18 Chromatographic Method for The Liquid Chromatographic Determination of Lipophilic Antioxidants in Plants. *Journal of Chromatography*. Vol. 1048: 263–267.
- Leong, L. P., & Shui, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. *Food Chemistry*. Vol. 76: 69-75.
- Ling, L. T., & Planisamy, U. D. 1999. *Review: Potential Antioxidants from Tropical Plants*, In: Valdez, B., editor, Food industrial processes-methods, Kuala Lumpur: In Tech; p.64-72.
- Lopez, D. C., & Notato, M. G. 2005. Alkaloids from *Pandanus amaryllifolius* Collected from Marikina, Philippines. *Philippine Journal of Science*. Vol. 134(1): 39-44.
- Margaretta, S., Handayani, S. D., Indraswati, N., Hindarso, H. 2011. Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus amaryllifolius* Roxb sebagai Antioksidan Alami. *WIDYA TEKNIK*. Vol. 10(1) : 21-30.
- Marinova, G., & Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulg. J. Agric. Sci*. Vol. 17: 11-24.

- Miean, K. H., & Mohamed, S. 2001. Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 49: 3106-3112.
- Miryanti, Y. I. P. A., Sapei, L., Budiono, K, & Indra, S. 2011. *Ekstraksi Antioksidan Dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Artikel yang tidak diterbitkan. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* Vol. 26(2): 212.
- Mukherjee, S. K., & Litz, R. E. 2009. *Introduction: Botany and Importance*. In: Litz RE (ed) *The mango botany, production and uses, 2nd edn*. Wallingford: CBI International, hal. 1–18.
- Mulja, M., & Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P. K., & Lal, J. 2005. Effect of Mangiferin on Hyperglycemia and Atherogenicity in Streptozotocin Diabetic Rats. *J Ethnopharmacol.* Vol. 97(3): 497-501.
- Nely, F. 2007. *Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar Dan Bubuk Rempah Pabrik Dengan Metode Polifenol Dan Uji AOM (Active Oxygen Method)*. Tidak diterbitkan. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nisma, F, Situmorang, A, & Fajar, M. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berdasarkan Aktivitas SOD (Superoxyd Dismutase) Dan Kadar MDA (Malonildialdehyde) Pada Sel Darah Merah Domba Yang Mengalami Stress Oksidatif Secara *In Vitro*. *FARMASAINS*. Vol. 1(1).
- Nor, F. M., Mohamed, S., Idris, N. A., & Ismail, R. 2008. Antioxidative Properties of *Pandanus amaryllifolius* Leaf Extracts in Accelerated Oxidation and Deep Frying Studies. *Food Chemistry*. Vol. 110: 319–327.
- Nugroho, A. E. 2007. Manggis (*Garcinia mangostana* L.): Dari Kulit Buah Yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. *MOT*. Vol. 12(42).
- Nurhasana, F., & Syamsudin. 2005. Efek Antioksidan dari Ekstrak Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala*L.) Pada Tikus Putih. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 3(1): 1-3.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., & Ono, M., 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. *Biol. Pharm. Bull.* Vol. 24(10): 1202-1205.

- Ortega, R. M. 2006. Importance of Functional Foods in The Mediterranean Diet. *Public Health Nutr.* Vol. 9(8A): 1136-1140.
- Osawa, T. 1994. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological systems. Dalam *Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in the Tropics*, I. Uritani, V. V. Garcia, and E. M. Mendoza, Eds., pp. 241–251. Japan: Japan Scientific Societies Press.
- Park, S. J., Myoung, H., Kim, Y. Y., Paeng, J. Y., Park, J. W., Kim, M. J., Hong, S. M. 2008. Anticancer effects of genistein, green tea catechins, and cordycepin on oral squamous cell carcinoma. *J Korean Oral Maxillofac Surg.* Vol. 34:1–10.
- Pietta, P. G. 2000. Reviews: Flavonoid as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* Vol. 63: 1035-1042.
- Prabhu, S., Jainu, M., Sabitha, K. E., Devi, & Shyamala, C. S. 2006. Effect of Mangiferin on Mitochondrial Energy Production in Experimentally Induced Myocardial Infarcted Rats. *Vascul Pharmacol.* Vol. 44(6): 519-525.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Med Lab Anal Prog.* Vol. 19(2):1–6.
- Przybylski, R., Lee, Y. C., & Eskin, N. A. M. 1998. Antioxidant and Radical-Scavenging Activities of Buckwheat Seed Components. *JAOCS.* Vol. 75(11).
- Rappoport, Z. 2003. *The Chemistry of Phenol*. Jerussalem: John Wiley and Sons, Ltd.
- Richa, Y. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dari Ekstrak Petroleumeter, Etil Asetat Dan Etanol Rhizoma Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)*. Tidak diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rita, Y. 2006. *Kandungan Tanin dan Potensi Anti Streptococcus Mutans Daun The Varietas Assamica pada Berbagai Tahap Pengolahan*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rukmana, Rahmat. 1997. *Mangga: Budidaya dan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sarmah, P. C., & Hazarika, R. 2012. Evaluation of Hypoglycemic Effect of Mangifera Leaf. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* Vol. 3: 98-102.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi Edisi kedua*. Yogyakarta: Liberty.

- Schwarz, K., *et al.* 2001. Investigation of Plant Extracts for The Protection of Processed Foods Against Lipid Oxidation. Comparison of Antioxidant Assays Based on Radical Scavenging, Lipid Oxidation and Analysis of The Principal Antioxidant Compounds. *Eur. Food Res. Technol.* Vol. 212: 319-328.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidans (Chemistry, Health Effects, and Applications)*. Champaign, Illinois: AOAC Press.
- Shivaprasad, H. N., Mohan, S., & Kharya, M. D. 2005. *In-vitro Models for Antioxidant Activity Evaluation*. A Review. <http://www.pharmainfo.net>.
- Sie, J. O. 2013. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2(1).
- Sies, H. 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp. Physiol.* Vol. 82(2): 291–295.
- Singleton, V., & Rossi, J. 1965. Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal Enology and Viticulture*. Vol. 16: 144-158.
- Somkuwar, D. O., & Kamble, V. A. 2013. Phytochemical Screening of Ethanolic Extracts of Stem, Leaves, Flower and Seed Kernel of *Mangifera Indica* L. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* Vol. 4(2): 383-389.
- Sudarmadji *et al.* 1996. *Prosedur Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sukandar, D., Zayyanti, D., & Septyani. 2007. Laporan Penelitian: *Eksplorasi Potensi Kimia Minyak Atsiri Pada Daun Tumbuhan Pandan Wangi*. Jakarta: UIN Syahid.
- Sukartini, & Syah, M. J. A. 2009. Potensi Kandungan Antosianin pada Daun Muda Tanaman Mangga sebagai Kriteria Seleksi Dini Zuriat Mangga. *J. Hort.* 19(1): 23-27.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Zevallos, L. C., & Byrne, D. H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts. *J Food Comp Anal.* Vol. 19: 669-675.
- Tjitrosoepomo, G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

- Tursiman, Ardiningsih, P., & Nofiani, R. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol. 1(1): 45-48.
- Utama, I. M. S., Setiyo, Y., Puja, I. A., & Antara, N. S. 2011. Kajian Atmosfir Terkendali untuk Memperlambat Penurunan Mutu Buah Mangga Arumanis Selama Penyimpanan. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. Vol. 2(1): 27-33.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.
- Vierkötter *et al.* 2009. The SCINEXA: a novel, validated score to simultaneously assess and differentiate between intrinsic and extrinsic skin ageing. *J Dermatol Sci*. Vol. 53: 207-11.
- Wakte, K. V., Zanan R. L., Saini, A., Jawali, N., Thengane, R. J., & Nadaf, A. B. 2012. Genetic Diversity Assessment in *Pandanus Amaryllifolius* Roxb. Populations of India. *Genet Resour Crop Evol*. Vol. 59: 1583–1595.
- Wauthoz, N., Balde, A., Balde, E. S., Van Damme, M., & Duez, P. 2007. Ethnopharmacology of *Mangifera indica* L. Bark and Pharmacological Studies of Its Main C-Glucosylxanthone, Mangiferin. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 1(2): 112-119.
- Wijesekera, R. O. B. 1991. *Illustrated edition: The Medicinal plant industry*. Boca Raton : CRC Press.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisus (Anggota IKAPI).
- Windono, T., & Sutarjadi. 2002. Penyebaran dalam Aneka Jenis Bahan Alami Serta Profil Struktur Kimia Senyawa Antifungi terhadap *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*. *Artocarpus*. Vol. 2(2): 48-62.
- Yoshimi, *et al.* 2001. The Inhibitory Effects of Mangiferin, A Naturally Occurring Glucosylxanthone, in Bowel Carcinogenesis of Male F344 Rats. *Cancer Letters*. Vol. Vol. 163(2): 163-170.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatra*. Vol. 3(1): 7-10.

LAMPIRAN

Lampiran A. Gambar Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi



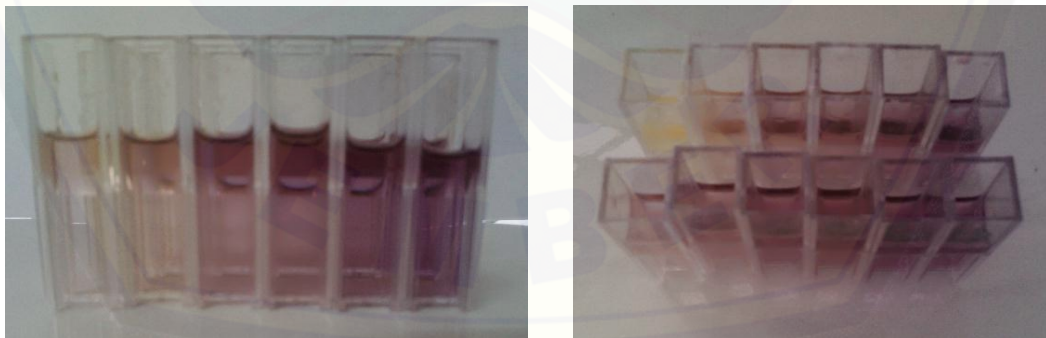
Lampiran B. Perhitungan % Rendemen

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

$$\text{Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung} = \frac{21,69 \text{ g}}{103,54 \text{ g}} \times 100\% = 20,95\%$$

$$\text{Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi} = \frac{11,90 \text{ g}}{102,12 \text{ g}} \times 100\% = 11,65\%$$

Lampiran C. Gambar Pengujian Aktivitas Antioksidan



Lampiran D. Data Absorbansi

D.1 Larutan DPPH 40 µg/ml

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5790118
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data-Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 400nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.052	799.5	0.053	799.0	0.054	798.5	0.054
798.0	0.055	797.5	0.055	797.0	0.055	796.5	0.055
796.0	0.058	795.5	0.057	795.0	0.057	794.5	0.058
794.0	0.058	793.5	0.059	793.0	0.060	792.5	0.061
792.0	0.061	791.5	0.062	791.0	0.063	790.5	0.063
790.0	0.063	789.5	0.064	789.0	0.065	788.5	0.065
788.0	0.066	787.5	0.067	787.0	0.067	786.5	0.068
786.0	0.068	785.5	0.069	785.0	0.069	784.5	0.070
784.0	0.070	783.5	0.071	783.0	0.072	782.5	0.072
782.0	0.073	781.5	0.074	781.0	0.074	780.5	0.075
780.0	0.075	779.5	0.076	779.0	0.077	778.5	0.078
778.0	0.079	777.5	0.079	777.0	0.080	776.5	0.081
776.0	0.082	775.5	0.083	775.0	0.084	774.5	0.085
774.0	0.082	773.5	0.087	773.0	0.088	772.5	0.088
772.0	0.089	771.5	0.090	771.0	0.090	770.5	0.091
770.0	0.092	769.5	0.093	769.0	0.094	768.5	0.094
768.0	0.095	767.5	0.096	767.0	0.097	766.5	0.098
766.0	0.099	765.5	0.100	765.0	0.101	764.5	0.102
764.0	0.103	763.5	0.104	763.0	0.105	762.5	0.106
762.0	0.106	761.5	0.107	761.0	0.107	760.5	0.108
759.0	0.110	759.5	0.112	759.0	0.114	758.5	0.115
758.0	0.116	757.5	0.117	757.0	0.118	756.5	0.119
756.0	0.120	755.5	0.121	755.0	0.122	754.5	0.123
754.0	0.124	753.5	0.125	753.0	0.126	752.5	0.127
752.0	0.128	751.5	0.129	751.0	0.130	750.5	0.131
750.0	0.132	749.5	0.133	749.0	0.135	748.5	0.136
748.0	0.137	747.5	0.138	747.0	0.139	746.5	0.141
746.0	0.142	745.5	0.143	745.0	0.144	744.5	0.145
744.0	0.148	743.5	0.147	743.0	0.149	742.5	0.150
742.0	0.151	741.5	0.152	741.0	0.153	740.5	0.155
740.0	0.156	739.5	0.157	739.0	0.159	738.5	0.160
738.0	0.161	737.5	0.163	737.0	0.164	736.5	0.165
736.0	0.166	735.5	0.167	735.0	0.168	734.5	0.169
734.0	0.171	733.5	0.172	733.0	0.174	732.5	0.175
732.0	0.176	731.5	0.178	731.0	0.179	730.5	0.180
730.0	0.181	729.5	0.183	729.0	0.184	728.5	0.186
728.0	0.187	727.5	0.188	727.0	0.190	726.5	0.191
726.0	0.193	725.5	0.194	725.0	0.196	724.5	0.197
724.0	0.198	723.5	0.200	723.0	0.201	722.5	0.202
722.0	0.204	721.5	0.206	721.0	0.208	720.5	0.208
720.0	0.210	719.5	0.211	719.0	0.213	718.5	0.215
718.0	0.217	717.5	0.218	717.0	0.220	716.5	0.222
716.0	0.223	715.5	0.224	715.0	0.226	714.5	0.227
714.0	0.228	713.5	0.230	713.0	0.231	712.5	0.233
712.0	0.234	711.5	0.236	711.0	0.237	710.5	0.239
710.0	0.240	709.5	0.241	709.0	0.243	708.5	0.245
708.0	0.247	707.5	0.248	707.0	0.250	706.5	0.252
706.0	0.253	705.5	0.255	705.0	0.256	704.5	0.258
704.0	0.259	703.5	0.261	703.0	0.263	702.5	0.264
702.0	0.266	701.5	0.267	701.0	0.268	700.5	0.270
700.0	0.272	699.5	0.274	699.0	0.276	698.5	0.278
698.0	0.279	697.5	0.281	697.0	0.283	696.5	0.284
696.0	0.285	695.5	0.287	695.0	0.288	694.5	0.290
694.0	0.291	693.5	0.293	693.0	0.294	692.5	0.295
692.0	0.297	691.5	0.298	691.0	0.300	690.5	0.301
690.0	0.303	689.5	0.305	689.0	0.306	688.5	0.307
688.0	0.309	687.5	0.310	687.0	0.312	686.5	0.314
686.0	0.315	685.5	0.316	685.0	0.318	684.5	0.319

684.0	0.321	683.5	0.323	683.0	0.324	682.5	0.325
682.0	0.327	681.5	0.329	681.0	0.331	680.5	0.333
680.0	0.334	679.5	0.336	679.0	0.338	678.5	0.340
678.0	0.341	677.5	0.343	677.0	0.345	676.5	0.346
676.0	0.347	675.5	0.348	675.0	0.349	674.5	0.351
674.0	0.353	673.5	0.354	673.0	0.355	672.5	0.357
672.0	0.359	671.5	0.361	671.0	0.362	670.5	0.364
670.0	0.365	669.5	0.366	669.0	0.368	668.5	0.370
668.0	0.371	667.5	0.373	667.0	0.374	666.5	0.375
666.0	0.377	665.5	0.378	665.0	0.380	664.5	0.381
664.0	0.382	663.5	0.384	663.0	0.385	662.5	0.386
662.0	0.388	661.5	0.390	661.0	0.391	660.5	0.392
660.0	0.394	659.5	0.396	659.0	0.398	658.5	0.399
658.0	0.401	657.5	0.402	657.0	0.403	656.5	0.404
656.0	0.405	655.5	0.407	655.0	0.408	654.5	0.410
654.0	0.411	653.5	0.412	653.0	0.413	652.5	0.415
652.0	0.416	651.5	0.418	651.0	0.419	650.5	0.420
650.0	0.422	649.5	0.423	649.0	0.424	648.5	0.426
648.0	0.427	647.5	0.429	647.0	0.430	646.5	0.431
646.0	0.432	645.5	0.434	645.0	0.436	644.5	0.437
644.0	0.438	643.5	0.440	643.0	0.441	642.5	0.443
642.0	0.444	641.5	0.446	641.0	0.448	640.5	0.449
640.0	0.451	639.5	0.452	639.0	0.453	638.5	0.454
638.0	0.456	637.5	0.458	637.0	0.459	636.5	0.461
636.0	0.463	635.5	0.464	635.0	0.465	634.5	0.466
634.0	0.467	633.5	0.469	633.0	0.470	632.5	0.472
632.0	0.474	631.5	0.475	631.0	0.477	630.5	0.478
630.0	0.480	629.5	0.481	629.0	0.482	628.5	0.484
628.0	0.485	627.5	0.487	627.0	0.489	626.5	0.490
626.0	0.492	625.5	0.493	625.0	0.495	624.5	0.496
624.0	0.497	623.5	0.499	623.0	0.501	622.5	0.502
622.0	0.503	621.5	0.505	621.0	0.507	620.5	0.508
620.0	0.510	619.5	0.512	619.0	0.514	618.5	0.515
618.0	0.517	617.5	0.518	617.0	0.520	616.5	0.521
616.0	0.523	615.5	0.524	615.0	0.526	614.5	0.528
614.0	0.529	613.5	0.531	613.0	0.533	612.5	0.534
612.0	0.536	611.5	0.537	611.0	0.539	610.5	0.541
610.0	0.543	609.5	0.544	609.0	0.546	608.5	0.548
608.0	0.550	607.5	0.551	607.0	0.553	606.5	0.555
606.0	0.557	605.5	0.559	605.0	0.561	604.5	0.562
604.0	0.564	603.5	0.566	603.0	0.568	602.5	0.569
602.0	0.571	601.5	0.573	601.0	0.575	600.5	0.577
600.0	0.577	599.5	0.574	599.0	0.573	598.5	0.575
598.0	0.577	597.5	0.579	597.0	0.581	596.5	0.583
596.0	0.584	595.5	0.586	595.0	0.588	594.5	0.591
594.0	0.593	593.5	0.596	593.0	0.597	592.5	0.599
592.0	0.600	591.5	0.602	591.0	0.604	590.5	0.605
590.0	0.607	589.5	0.609	589.0	0.612	588.5	0.614
588.0	0.616	587.5	0.619	587.0	0.622	586.5	0.624
586.0	0.626	585.5	0.628	585.0	0.630	584.5	0.633
584.0	0.636	583.5	0.638	583.0	0.641	582.5	0.644
582.0	0.647	581.5	0.649	581.0	0.652	580.5	0.655
580.0	0.659	579.5	0.662	579.0	0.666	578.5	0.669
578.0	0.672	577.5	0.674	577.0	0.677	576.5	0.680
576.0	0.683	575.5	0.686	575.0	0.689	574.5	0.692
574.0	0.696	573.5	0.699	573.0	0.702	572.5	0.705
572.0	0.708	571.5	0.711	571.0	0.714	570.5	0.717
570.0	0.721	569.5	0.725	569.0	0.729	568.5	0.733
568.0	0.737	567.5	0.740	567.0	0.745	566.5	0.749
566.0	0.753	565.5	0.757	565.0	0.760	564.5	0.764
564.0	0.768	563.5	0.772	563.0	0.777	562.5	0.781
562.0	0.785	561.5	0.790	561.0	0.794	560.5	0.798
560.0	0.803	559.5	0.808	559.0	0.813	558.5	0.818
558.0	0.823	557.5	0.827	557.0	0.832	556.5	0.836
556.0	0.841	555.5	0.846	555.0	0.850	554.5	0.855
554.0	0.861	553.5	0.867	553.0	0.873	552.5	0.878
552.0	0.885	551.5	0.890	551.0	0.896	550.5	0.900
550.0	0.905	549.5	0.910	549.0	0.915	548.5	0.921
548.0	0.928	547.5	0.934	547.0	0.940	546.5	0.945
546.0	0.951	545.5	0.957	545.0	0.963	544.5	0.969
544.0	0.975	543.5	0.981	543.0	0.987	542.5	0.993
542.0	0.999	541.5	1.006	541.0	1.012	540.5	1.018
540.0	1.026	539.5	1.033	539.0	1.040	538.5	1.046
538.0	1.053	537.5	1.059	537.0	1.066	536.5	1.072
536.0	1.077	535.5	1.084	535.0	1.091	534.5	1.098
534.0	1.103	533.5	1.110	533.0	1.116	532.5	1.123
532.0	1.129	531.5	1.135	531.0	1.142	530.5	1.148
530.0	1.154	529.5	1.160	529.0	1.166	528.5	1.172
528.0	1.178	527.5	1.184	527.0	1.191	526.5	1.197
526.0	1.203	525.5	1.208	525.0	1.214	524.5	1.220
524.0	1.236	523.5	1.239	523.0	1.234	522.5	1.239

522.0	1.243	521.5	1.247	521.0	1.251	520.5	1.256
520.0	1.250	519.5	1.264	519.0	1.268	518.5	1.271
518.0	1.273	517.5	1.276	517.0	1.279	516.5	1.281
516.0	1.282	516.5	1.283	515.0	1.285	514.5	1.287
514.0	1.288	513.5	1.289	513.0	1.289	512.5	1.289
512.0	1.289	511.5	1.289	511.0	1.289	510.5	1.289
510.0	1.288	509.5	1.287	509.0	1.288	508.5	1.284
508.0	1.282	507.5	1.280	507.0	1.277	506.5	1.275
506.0	1.273	506.5	1.269	505.0	1.266	504.5	1.263
504.0	1.260	503.5	1.257	503.0	1.262	502.5	1.248
502.0	1.244	501.5	1.239	501.0	1.235	500.5	1.230
500.0	1.225	499.5	1.218	499.0	1.213	498.5	1.208
498.0	1.201	497.5	1.196	497.0	1.191	496.5	1.185
496.0	1.179	495.5	1.172	495.0	1.166	494.5	1.160
494.0	1.154	493.5	1.147	493.0	1.140	492.5	1.133
492.0	1.127	491.5	1.120	491.0	1.113	490.5	1.107
490.0	1.100	489.5	1.094	489.0	1.088	488.5	1.079
488.0	1.072	487.5	1.066	487.0	1.058	486.5	1.051
486.0	1.043	485.5	1.036	485.0	1.029	484.5	1.022
484.0	1.015	483.5	1.008	483.0	1.002	482.5	0.995
482.0	0.988	481.5	0.982	481.0	0.975	480.5	0.967
480.0	0.959	479.5	0.952	479.0	0.944	478.5	0.937
478.0	0.931	477.5	0.924	477.0	0.917	476.5	0.911
476.0	0.905	475.5	0.898	475.0	0.892	474.5	0.885
474.0	0.878	473.5	0.872	473.0	0.866	472.5	0.859
472.0	0.852	471.5	0.845	471.0	0.839	470.5	0.834
470.0	0.828	469.5	0.822	469.0	0.816	468.5	0.810
468.0	0.804	467.5	0.798	467.0	0.792	466.5	0.786
466.0	0.780	465.5	0.774	465.0	0.768	464.5	0.763
464.0	0.758	463.5	0.753	463.0	0.747	462.5	0.742
462.0	0.737	461.5	0.731	461.0	0.726	460.5	0.720
460.0	0.715	459.5	0.710	459.0	0.704	458.5	0.699
458.0	0.696	457.5	0.690	457.0	0.686	456.5	0.681
456.0	0.676	455.5	0.672	455.0	0.668	454.5	0.664
454.0	0.660	453.5	0.656	453.0	0.652	452.5	0.647
452.0	0.644	451.5	0.640	451.0	0.638	450.5	0.632
450.0	0.629	449.5	0.625	449.0	0.622	448.5	0.619
448.0	0.616	447.5	0.612	447.0	0.609	446.5	0.605
446.0	0.602	445.5	0.599	445.0	0.596	444.5	0.594
444.0	0.592	443.5	0.589	443.0	0.587	442.5	0.585
442.0	0.582	441.5	0.580	441.0	0.578	440.5	0.576
440.0	0.574	439.5	0.571	439.0	0.570	438.5	0.568
438.0	0.566	437.5	0.565	437.0	0.564	436.5	0.562
436.0	0.561	435.5	0.559	435.0	0.558	434.5	0.556
434.0	0.555	433.5	0.554	433.0	0.553	432.5	0.552
432.0	0.551	431.5	0.550	431.0	0.549	430.5	0.547
430.0	0.546	429.5	0.545	429.0	0.544	428.5	0.543
428.0	0.542	427.5	0.540	427.0	0.539	426.5	0.537
426.0	0.536	425.5	0.536	425.0	0.535	424.5	0.534
424.0	0.533	423.5	0.532	423.0	0.531	422.5	0.531
422.0	0.530	421.5	0.530	421.0	0.529	420.5	0.528
420.0	0.527	419.5	0.526	419.0	0.526	418.5	0.525
418.0	0.524	417.5	0.523	417.0	0.523	416.5	0.523
416.0	0.522	415.5	0.522	415.0	0.521	414.5	0.521
414.0	0.520	413.5	0.520	413.0	0.520	412.5	0.520
412.0	0.520	411.5	0.520	411.0	0.519	410.5	0.519
410.0	0.519	409.5	0.519	409.0	0.520	408.5	0.520
408.0	0.520	407.5	0.520	407.0	0.521	406.5	0.521
406.0	0.522	405.5	0.523	405.0	0.523	404.5	0.524
404.0	0.524	403.5	0.525	403.0	0.525	402.5	0.527
402.0	0.528	401.5	0.529	401.0	0.530	400.5	0.531
400.0	0.531						

D.2 Larutan Uji yang Direaksikan dengan DPPH (tutup vs buka) menit ke 0 sampai 100

Daun Mangga gadung

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.528	2	0.568	3	0.483	4	0.532
5	0.485	6	0.524	7	0.456	8	0.525
9	0.450	10	0.526	11	0.444	12	0.528
13	0.441	14	0.521	15	0.438	16	0.541
17	0.434	18	0.547	19	0.432	20	0.551
21	0.430	22	0.559	23	0.428	24	0.566
25	0.427	26	0.572	27	0.426	28	0.566
29	0.425	30	0.587	31	0.423	32	0.593
33	0.423	34	0.597	35	0.421	36	0.605
37	0.420	38	0.614	39	0.420	40	0.627
41	0.418	42	0.637				

Daun Pandan wangi

ID	ABS	DPPH	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.065		2	0.818	3	0.852	4	0.869
5	0.820		6	0.813	7	0.838	8	0.816
9	0.898		10	0.816	11	0.905	12	0.815
13	0.815		14	0.814	15	0.922	16	0.813
17	0.932		18	0.812	19	0.938	20	0.812
21	0.950		22	0.811	23	0.987	24	0.810
25	0.977		26	0.974	27	0.810	28	0.989
29	1.005		30	0.810	31	0.810	32	1.014
33	0.809		34	1.025	35	0.809	36	1.040
37	0.810		38	1.055	39	0.909	40	1.059
41	0.810		42	1.093	43	0.810	44	1.105

D.3 Larutan Vitamin C

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.758	2	0.812	3	0.785	4	0.785
5	0.789	6	0.834	7	0.681	8	0.828
9	0.423	10	0.505	11	0.498	12	0.813
13	0.828	14	0.822	15	0.198	16	0.201
17	0.291	18	0.631	19	0.085	20	0.267

D.4 Larutan Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.817	2	0.677	3	0.675	4	0.675
5	0.644	6	0.647	7	0.644	8	0.617
9	0.618	10	0.614	11	0.632	12	0.531
13	0.588	14	0.417	15	0.419	16	0.420
17	0.318	18	0.913	19	0.320		

D.5 Larutan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.043	2	0.824	3	0.828	4	0.833
5	0.771	6	0.774	7	0.731	8	0.702
9	0.707	10	0.721	11	0.672	12	0.678
13	0.673	14	0.586	15	0.555	16	0.552
17	0.422	18	0.413	19	0.410		

D.6 Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.125	2	0.827	3	0.822	4	0.825
5	0.728	6	0.733	7	0.720	8	0.647
9	0.644	10	0.663	11	0.554	12	0.552
13	0.675	14	0.424	15	0.414	16	0.431
17	0.193	18	0.155	19	0.192		

D.7 Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.093	2	0.851	3	0.818	4	0.818
5	0.829	6	0.784	7	0.738	8	0.739
9	0.714	10	0.712	11	0.710	12	0.681
13	0.694	14	0.682	15	0.678	16	0.671
17	0.627	18	0.488	19	0.432	20	0.432

D.8 Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.093	2	0.851	3	0.818	4	0.818
5	0.829	6	0.784	7	0.738	8	0.739
9	0.714	10	0.712	11	0.710	12	0.681
13	0.694	14	0.682	15	0.678	16	0.671
17	0.627	18	0.488	19	0.432	20	0.432

Lampiran E. Perhitungan Bahan Pengujian Aktivitas Antioksidan

E.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Konsentrasi DPPH = 0,1 mM (Amin *et al.*, 2013; Marinova & Batchvarov, 2011)

MR DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) = 394,33 (Molyneux, 2004)

$$0,1 \text{ mM} = 0,0001 \text{ M}$$

$$= 0,0001 \text{ mol/L}$$

$$= \frac{0,0001 \text{ g/MR}}{\text{L}}$$

$$= \frac{0,0001 \text{ g/MR}}{\text{L}} \times 394,33$$

$$= 39,433 \text{ mg/L}$$

$$= 39,433 \text{ } \mu\text{g/ml} \text{ (40 } \mu\text{g/ml)}$$

$$2 \text{ mg DPPH dilarutkan dalam } 50 \text{ ml metanol} = \frac{2 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}}$$

$$= 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

E.2 Pembuatan Larutan Perbandingan (Vitamin C)

- Replikasi 1 dan Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{25,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1020 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/ml} = 51,000 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1020 \text{ } \mu\text{g/ml} = 102,000 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 51,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,100 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 102,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 51,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,300 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 102,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 51,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,500 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 102,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,600 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1012 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,600 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 101,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,060 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,120 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,180 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,240 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 50,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,300 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,360 \text{ } \mu\text{g/ml}$

E.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

- Replikasi 1

- Larutan Induk : $\frac{152,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6100 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 610,000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 610,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,500 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 610,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 73,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,500 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,050 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 14,640 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,500 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,100 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 21,960 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,500 \text{ } \mu\text{g/ml} = 9,150 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 29,280 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{152,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6092 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6092 \text{ } \mu\text{g/ml} = 609,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 609,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,460 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 609,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 73,100 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,460 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,046 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 14,621 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,460 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,092 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 21,931 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,460 \text{ } \mu\text{g/ml} = 9,138 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 29,242 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{152,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6116 \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6116 \mu\text{g/ml} = 611,600 \mu\text{g/ml}$$

$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 611,600 \mu\text{g/ml} = 30,580 \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{25 \text{ ml}} \times 611,600 \mu\text{g/ml} = 73,390 \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,580 \mu\text{g/ml} = 3,058 \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,390 \mu\text{g/ml} = 14,678 \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,580 \mu\text{g/ml} = 6,116 \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,390 \mu\text{g/ml} = 22,018 \mu\text{g/ml}$
$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 30,580 \mu\text{g/ml} = 9,174 \mu\text{g/ml}$	$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 73,390 \mu\text{g/ml} = 29,357 \mu\text{g/ml}$

E.4 Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

- Replikasi 1

- Larutan Induk : $\frac{153,6 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6144 \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6144 \mu\text{g/ml} = 614,400 \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6144 \mu\text{g/ml} = 1843,200 \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,400 \mu\text{g/ml} = 30,720 \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1843,200 \mu\text{g/ml} = 92,160 \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,400 \mu\text{g/ml} = 61,440 \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1843,200 \mu\text{g/ml} = 184,320 \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,400 \mu\text{g/ml} = 122,880 \mu\text{g/ml}$	
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,400 \mu\text{g/ml} = 245,760 \mu\text{g/ml}$	

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{154,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6164 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6164 \text{ } \mu\text{g/ml} = 616,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6164 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1849,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,820 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1849,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 92,460 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 61,640 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1849,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 184,920 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 123,280 \text{ } \mu\text{g/ml}$	
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 246,560 \text{ } \mu\text{g/ml}$	

- Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{154,7 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6188 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Pengenceran

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6188 \text{ } \mu\text{g/ml} = 618,800 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6188 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1856,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 618,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,940 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1856,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 92,820 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 618,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 61,880 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1856,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 185,640 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 618,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 123,760 \text{ } \mu\text{g/ml}$	
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 618,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 247,520 \text{ } \mu\text{g/ml}$	

E.5 Pembuatan Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung :
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

- Replikasi 1

- Larutan Induk : $\frac{160,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6420 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6420 \text{ } \mu\text{g/ml} = 642,000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 642,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 64,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 642,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 192,600 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 64,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,420 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 192,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 19,260 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 64,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,680 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 192,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 38,520 \text{ } \mu\text{g/ml}$
64,200 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 192,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 96,300 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{159,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6372 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6372 \text{ } \mu\text{g/ml} = 637,20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 637,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 63,720 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 637,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 191,160 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 63,720 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,372 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 19,116 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 63,720 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,488 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 38,230 \text{ } \mu\text{g/ml}$
63,720 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 95,580 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{159,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6396 \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6396 \mu\text{g/ml} = 639,600 \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 639,600 \mu\text{g/ml} = 63,960 \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 639,600 \mu\text{g/ml} = 191,880 \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 63,960 \mu\text{g/ml} = 6,396 \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,880 \mu\text{g/ml} = 19,188 \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 63,960 \mu\text{g/ml} = 25,584 \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,880 \mu\text{g/ml} = 38,380 \mu\text{g/ml}$
63,960 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 191,880 \mu\text{g/ml} = 95,940 \mu\text{g/ml}$

E.6 Pembuatan Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung :
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

- Replikasi 1

- Larutan Induk : $\frac{155,2 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6208 \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6208 \mu\text{g/ml} = 620,800 \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 620,800 \mu\text{g/ml} = 62,080 \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 620,800 \mu\text{g/ml} = 186,240 \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,080 \mu\text{g/ml} = 6,208 \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 186,240 \mu\text{g/ml} = 18,624 \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,080 \mu\text{g/ml} = 24,832 \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 186,240 \mu\text{g/ml} = 37,248 \mu\text{g/ml}$
62,080 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 186,240 \mu\text{g/ml} = 93,120 \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{154,0 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6160 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 616,000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 61,600 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 616,000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 184,800 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 61,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,160 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,480 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 61,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,640 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 36,960 \text{ } \mu\text{g/ml}$
61,600 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 92,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{153,7 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6148 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6148 \text{ } \mu\text{g/ml} = 614,800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 61,480 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 614,800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 184,444 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 61,480 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,148 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,444 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,444 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 61,480 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,592 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,444 \text{ } \mu\text{g/ml} = 36,888 \text{ } \mu\text{g/ml}$
61,480 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 184,444 \text{ } \mu\text{g/ml} = 92,220 \text{ } \mu\text{g/ml}$

E.7 Pembuatan Larutan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung :
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

- Replikasi 1

- Larutan Induk : $\frac{156,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6244 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6244 \text{ } \mu\text{g/ml} = 624,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 624,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 62,440 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 624,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 187,320 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,440 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,244 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 187,320 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,732 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,440 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,976 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 187,320 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,464 \text{ } \mu\text{g/ml}$
62,440 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 187,320 \text{ } \mu\text{g/ml} = 93,660 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

- Larutan Induk : $\frac{157,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 6284 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6284 \text{ } \mu\text{g/ml} = 628,400 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 628,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 62,840 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 628,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 188,520 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,840 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,284 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,852 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,840 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,136 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,704 \text{ } \mu\text{g/ml}$
62,840 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 94,260 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

- Larutan Induk : $\frac{156,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 6276 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 6276 \text{ } \mu\text{g/ml} = 627,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 627,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 62,760 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 627,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 188,280 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,760 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,276 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,280 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,828 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 62,760 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,104 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,280 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,656 \text{ } \mu\text{g/ml}$
62,760 $\mu\text{g/ml}$	$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 188,280 \text{ } \mu\text{g/ml} = 94,140 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Lampiran F. Pengujian Peredaman Radikal Bebas

Larutan standar dan uji 0,3 ml ditambahkan larutan DPPH ad 1,5 ml

F.1 Larutan Uji Pembanding (Vitamin C)

- Replikasi 1 dan Replikasi 3

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 5,100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,020 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,080 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 10,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,040 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,500 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,100 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 15,300 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,060 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,120 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 5,060 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 20,240 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,048 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 10,120 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,024 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,300 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,060 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 15,180 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,036 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,360 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,072 \text{ } \mu\text{g/ml}$

F.2 Larutan Uji Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

- Replikasi 1

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 3,050 \text{ } \mu\text{g/ml} = 0,610 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 14,640 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,928 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,220 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 21,960 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,392 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 9,150 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,830 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 29,280 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,856 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 3,046 \text{ } \mu\text{g/ml} = 0,609 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 14,621 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,924 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,092 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,218 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 21,931 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,386 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 9,138 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,828 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 29,242 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,848 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 3,058 \text{ } \mu\text{g/ml} = 0,612 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 14,678 \text{ } \mu\text{g/ml} = 2,936 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,116 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,223 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 22,018 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,404 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 9,174 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,835 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 29,357 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,871 \text{ } \mu\text{g/ml}$

F.3 Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

- Replikasi 1

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,720 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,144 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 122,880 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,576 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 61,440 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,288 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 184,320 \text{ } \mu\text{g/ml} = 36,864 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 92,160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,432 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 245,760 \text{ } \mu\text{g/ml} = 49,152 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,820 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,164 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 123,280 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,656 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 61,640 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,328 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 184,920 \text{ } \mu\text{g/ml} = 36,984 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 92,460 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,492 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 246,560 \text{ } \mu\text{g/ml} = 49,312 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 30,940 \text{ } \mu\text{g/ml} = 6,188 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 123,760 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,752 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 61,880 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,376 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 185,640 \text{ } \mu\text{g/ml} = 37,128 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 92,820 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,564 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 247,520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 49,504 \text{ } \mu\text{g/ml}$

F.4 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

- Replikasi 1

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,420 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,284 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 38,520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,704 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 19,260 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,852 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 64,200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,840 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,680 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,136 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 96,300 \text{ } \mu\text{g/ml} = 19,260 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,372 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,270 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 38,232 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,646 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 19,116 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,823 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 63,720 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,744 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,488 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,098 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 95,580 \text{ } \mu\text{g/ml} = 19,116 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,396 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,279 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 38,376 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,675 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 19,188 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,838 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 63,960 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,792 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,584 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,117 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 95,940 \text{ } \mu\text{g/ml} = 19,188 \text{ } \mu\text{g/ml}$

F.5 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

- Replikasi 1

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,208 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,242 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 37,248 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,450 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,624 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,725 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 62,080 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,416 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 24,832 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,966 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 93,120 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,624 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,160 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,232 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 36,960 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,392 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,480 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,696 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 61,600 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,320 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 24,640 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,928 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 92,400 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,480 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,148 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,230 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 36,888 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,378 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,444 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,689 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 61,480 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,296 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 24,592 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,918 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 92,220 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,444 \text{ } \mu\text{g/ml}$

F.6 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

- Replikasi 1

$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,244 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,249 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 37,464 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,493 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,732 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,746 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 62,440 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,488 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 24,976 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,995 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 93,660 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,732 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2

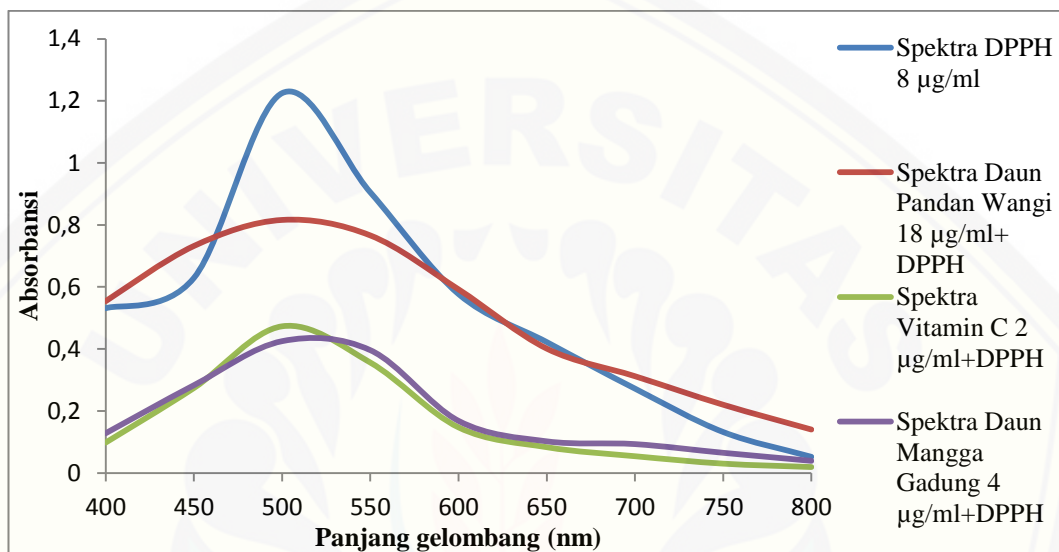
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,284 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,257 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 37,704 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,541 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,852 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,770 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 62,840 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,568 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,136 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,027 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 94,260 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,852 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3

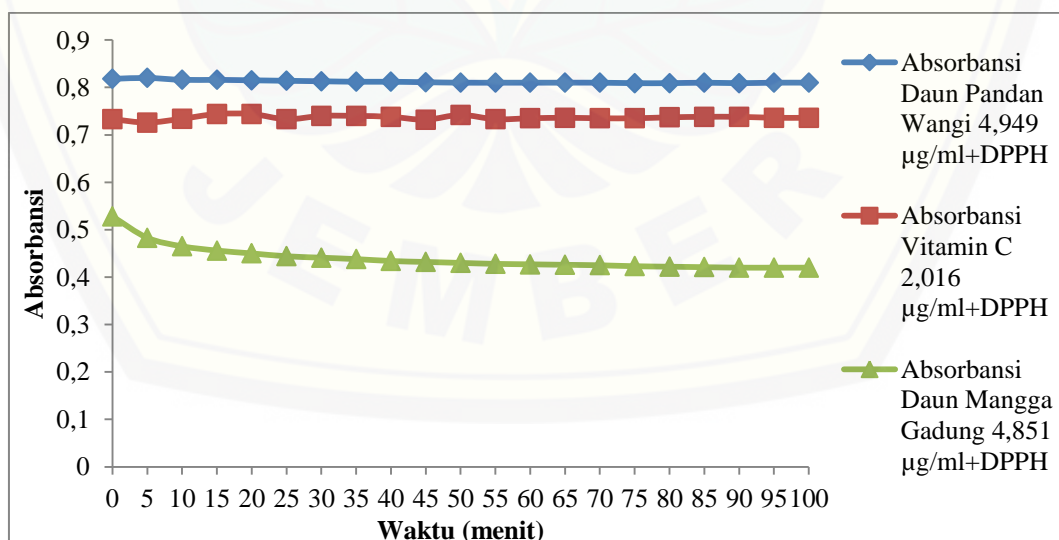
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 6,276 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1,255 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 37,656 \text{ } \mu\text{g/ml} = 7,531 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 18,828 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3,766 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 62,760 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,552 \text{ } \mu\text{g/ml}$
$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 25,104 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,021 \text{ } \mu\text{g/ml}$	$\frac{0,3 \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} \times 94,140 \text{ } \mu\text{g/ml} = 18,828 \text{ } \mu\text{g/ml}$

Lampiran G. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Data Mode : ABS
 Scan Range : 800,0-400,0 nm
 Slide Width : 4 nm
 Speed (nm/min) : 400 nm
 Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Lampiran H. Penentuan Waktu Inkubasi



Waktu (menit)	Absorbansi		
	Daun Mangga Gadung 4 $\mu\text{g/ml}$ +DPPH	Daun Pandan Wangi 18 $\mu\text{g/ml}$ +DPPH	Vitamin C 2 $\mu\text{g/ml}$ +DPPH
0	0,528	0,818	0,733
5	0,483	0,820	0,726
10	0,465	0,816	0,734
15	0,456	0,816	0,744
20	0,450	0,815	0,744
25	0,444	0,814	0,733
30	0,441	0,813	0,740
35	0,438	0,812	0,740
40	0,434	0,812	0,738
45	0,432	0,811	0,732
50	0,430	0,810	0,742
55	0,428	0,810	0,733
60	0,427	0,810	0,736
65	0,426	0,810	0,735
70	0,425	0,810	0,735
75	0,423	0,809	0,737
80	0,422	0,809	0,738
85	0,421	0,810	0,738
90	0,420	0,809	0,736
95	0,420	0,810	0,736
100	0,418	0,810	0,736

Lampiran I. Perhitungan % Peredaman dan IC₅₀

$$\text{Persen Peredaman} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

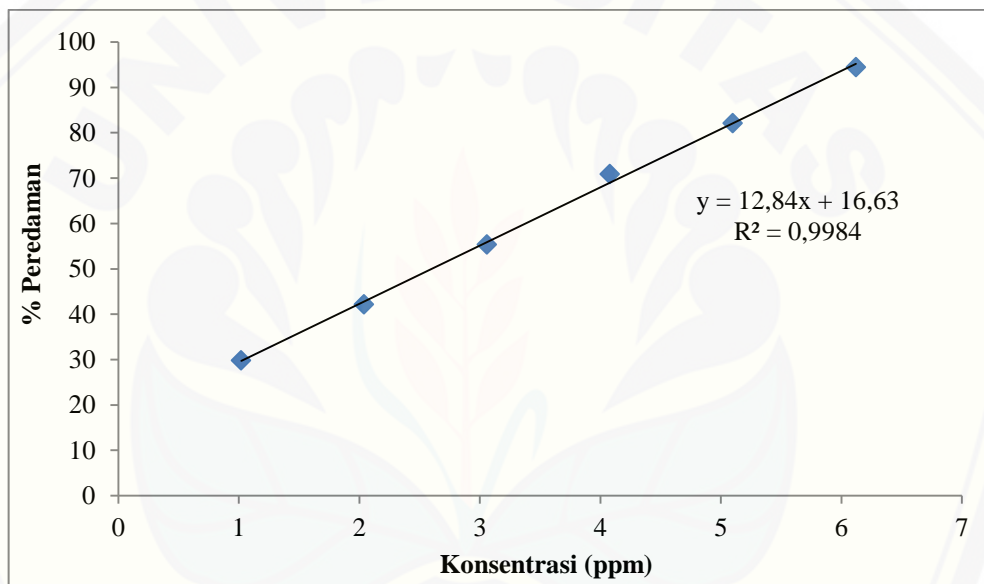
$$IC_{50} = \frac{y-a}{b} = \frac{50-a}{b}$$

Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)	Rata-rata IC ₅₀ (µg/ml)	SD	RSD (%)
Vitamin C	2,599	2,613	0,021	0,801
	2,603			
	2,637			
Ekstrak daun mangga gadung tunggal	3,257	3,263	0,009	0,282
	3,259			
	3,274			
Ekstrak daun pandan wangi tunggal	39,303	39,700	1,033	2,603
	40,873			
	38,923			
Kombinasi M : P Perbandingan 2 : 1	7,514	7,483	0,039	0,524
	7,439			
	7,496			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 1	13,564	13,392	0,157	1,175
	13,357			
	13,255			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 2	10,858	10,951	0,084	0,762
	10,978			
	11,018			

I.1 Vitamin C

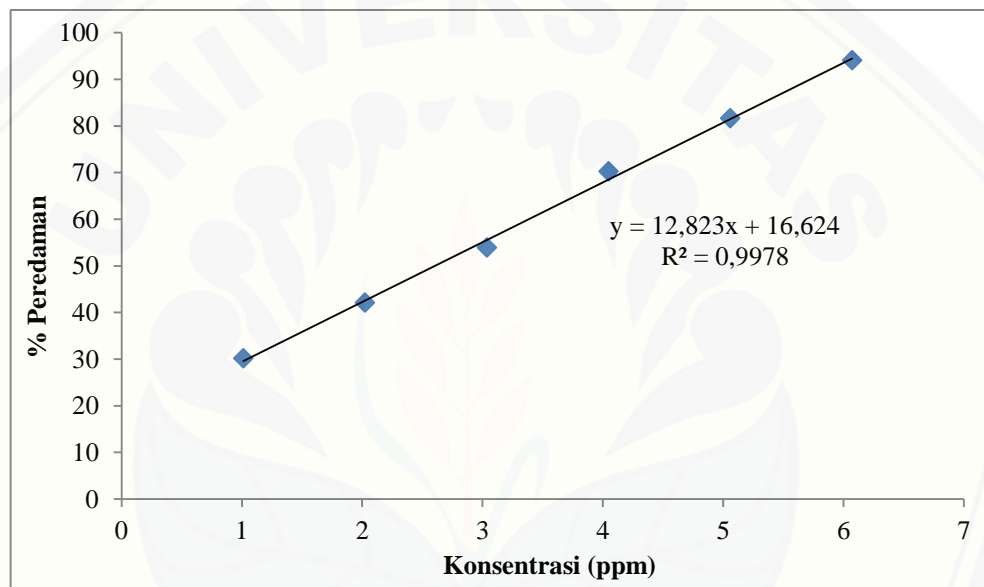
- Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,020	0,769	1,096	29,836	2,599
2,040	0,634	1,096	42,153	
3,060	0,489	1,096	55,383	
4,080	0,319	1,096	70,894	
5,100	0,196	1,096	82,117	
6,120	0,061	1,096	94,434	



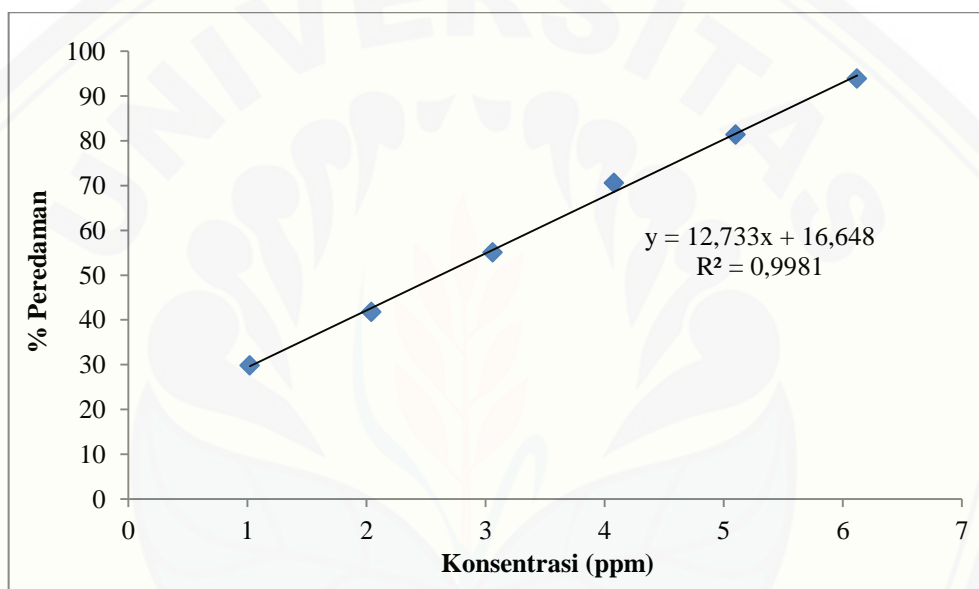
- Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,012	0,765	1,096	30,201	2,603
2,024	0,634	1,096	42,153	
3,036	0,505	1,096	53,923	
4,048	0,326	1,096	70,255	
5,060	0,201	1,096	81,661	
6,072	0,065	1,096	94,069	



- Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,020	0,769	1,096	29,836	2,637
2,040	0,638	1,096	41,788	
3,060	0,492	1,096	55,109	
4,080	0,322	1,096	70,620	
5,100	0,204	1,096	81,387	
6,120	0,067	1,096	93,887	



$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{2,599+2,603+2,637}{3} = 2,613 \mu\text{g}/\text{ml}$$

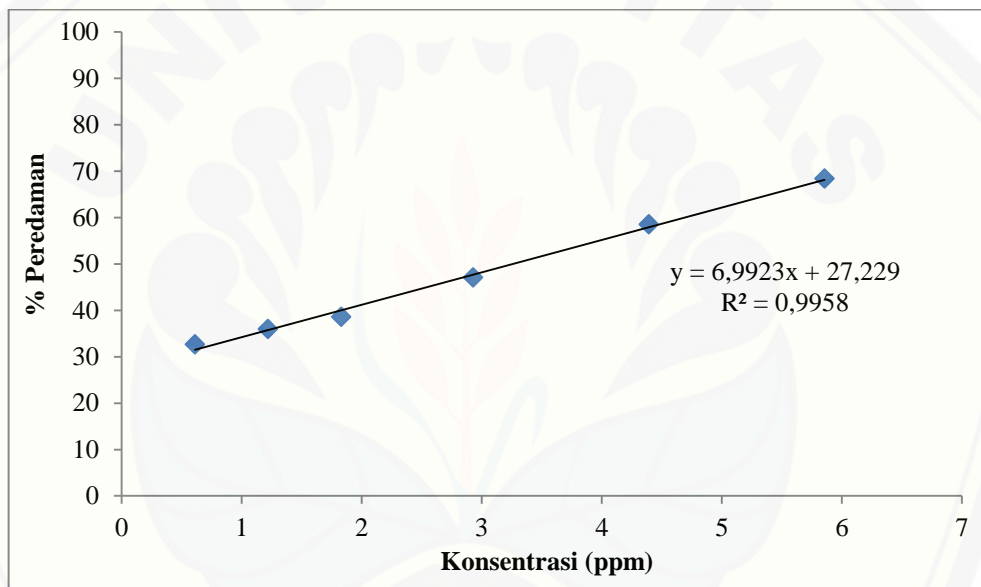
$$\text{SD} = 0,021$$

$$\text{RSD} = 0,801\%$$

I.2 Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

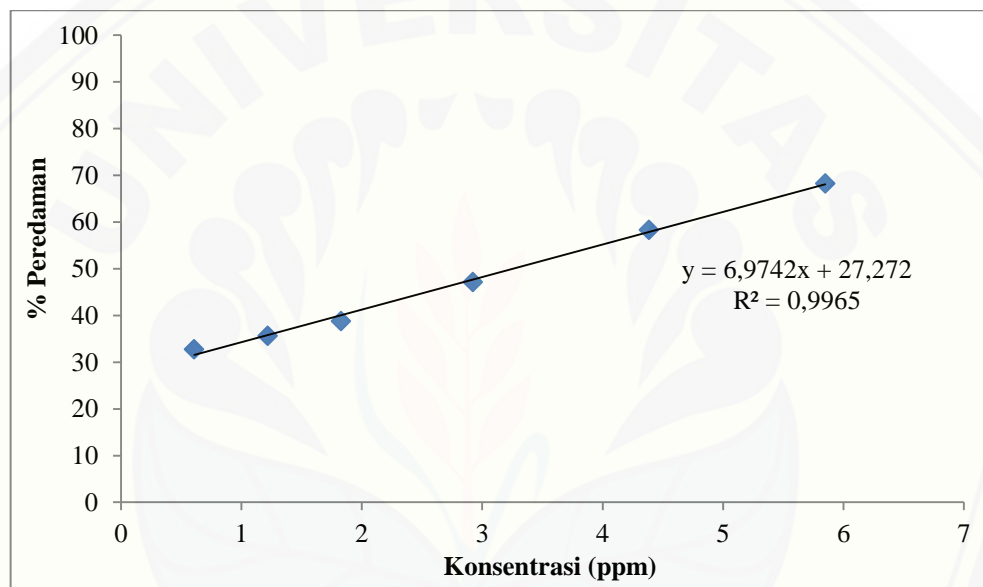
- Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
0,610	0,677	1,005	32,637	3,257
1,220	0,644	1,005	35,920	
1,830	0,617	1,005	38,607	
2,928	0,532	1,005	47,065	
4,392	0,417	1,005	58,507	
5,856	0,318	1,005	68,358	



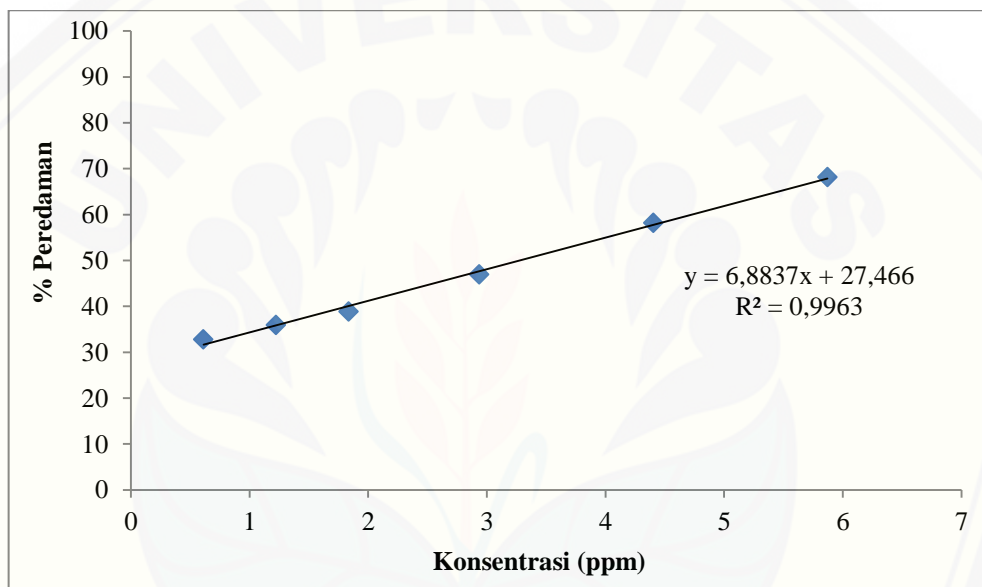
- Replikasi 2

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
0,609	0,676	1,005	32,736	3,259
1,218	0,647	1,005	35,622	
1,828	0,615	1,005	38,806	
2,924	0,531	1,005	47,164	
4,386	0,419	1,005	58,308	
5,848	0,319	1,005	68,259	



- Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
0,612	0,675	1,005	32,836	3,274
1,223	0,644	1,005	35,920	
1,835	0,614	1,005	38,905	
2,936	0,533	1,005	46,965	
4,404	0,420	1,005	58,209	
5,871	0,320	1,005	68,159	



$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{3,257+3,259+3,274}{3} = 3,263 \text{ µg/ml}$$

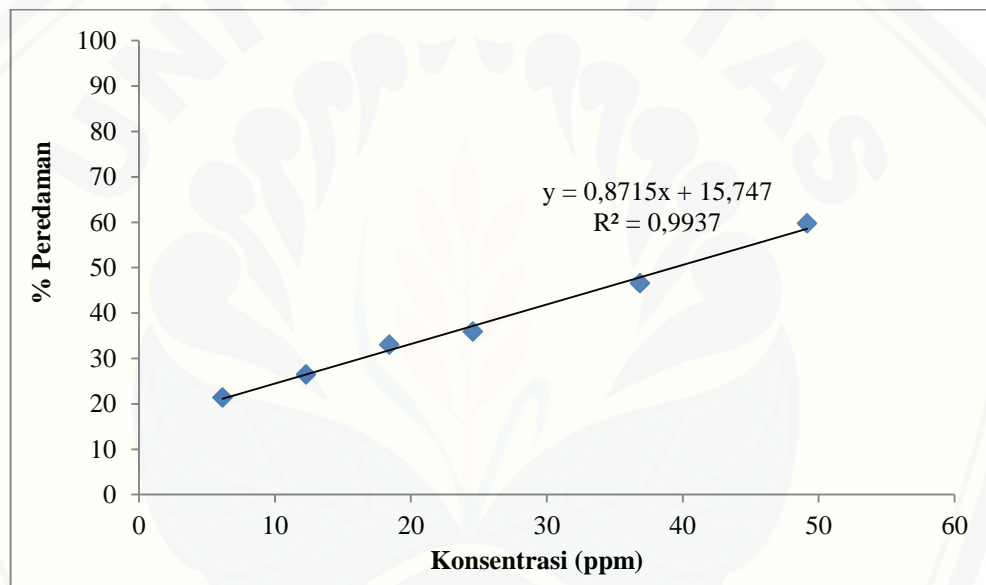
$$\text{SD} = 0,009$$

$$\text{RSD} = 0,282\%$$

I.3 Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

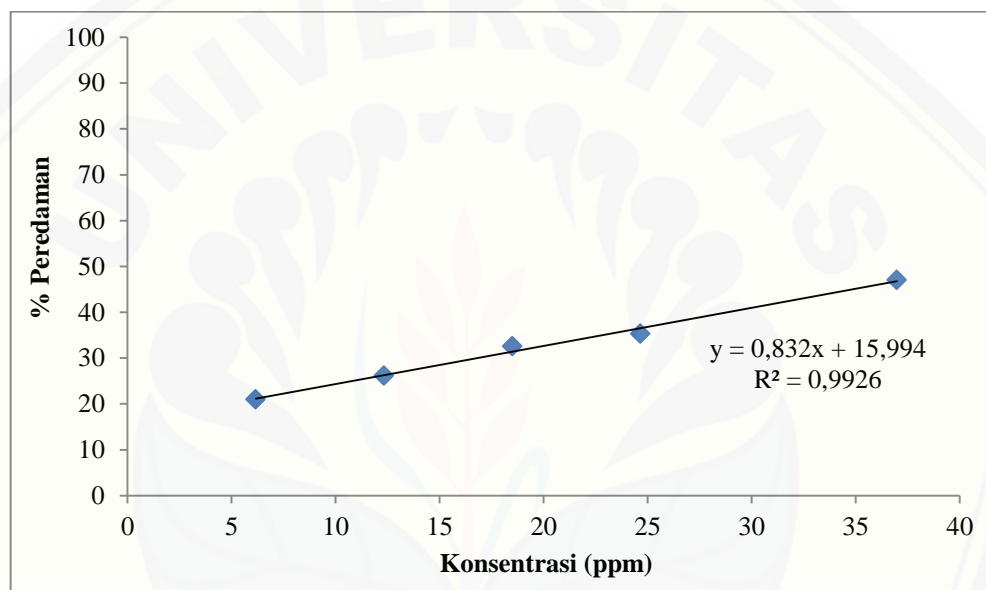
- Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
6,144	0,824	1,048	21,374	39,303
12,288	0,771	1,048	26,431	
18,432	0,702	1,048	33,015	
24,576	0,672	1,048	35,878	
36,864	0,560	1,048	46,565	
49,152	0,422	1,048	59,733	



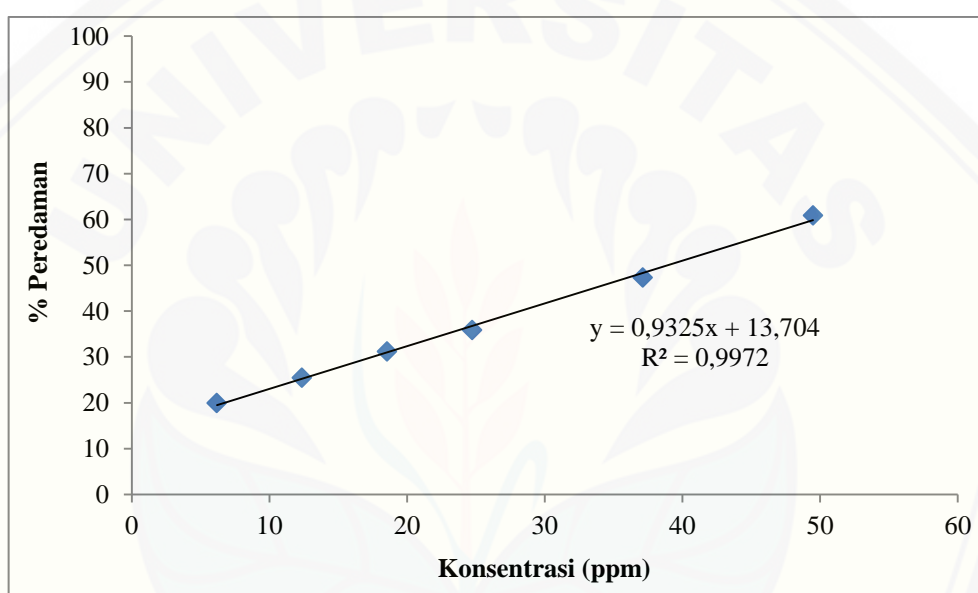
- Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
6,164	0,828	1,048	20,992	40,873
12,328	0,774	1,048	26,145	
18,492	0,707	1,048	32,538	
24,656	0,678	1,048	35,305	
36,984	0,555	1,048	47,042	
49,312	0,413	1,048	60,592	



- Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
6,188	0,839	1,048	19,943	38,923
12,376	0,781	1,048	25,477	
18,564	0,721	1,048	31,202	
24,752	0,672	1,048	35,878	
37,128	0,552	1,048	47,328	
49,504	0,410	1,048	60,878	



$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{39,303+40,873+38,923}{3} = 39,700 \mu\text{g/ml}$$

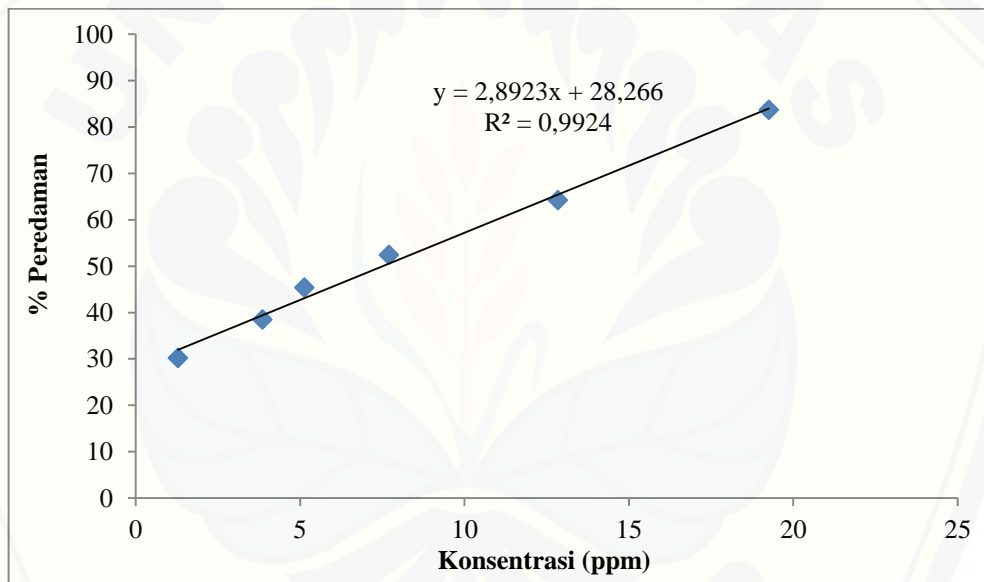
$$\text{SD} = 1,330$$

$$\text{RSD} = 2,603\%$$

I.4 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

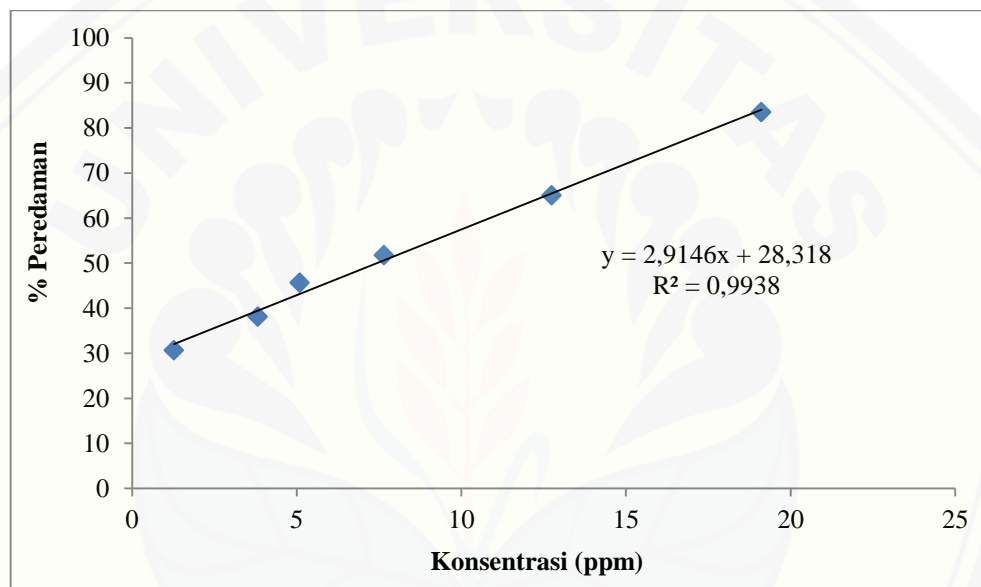
- Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,284	0,827	1,185	30,211	7,514
3,852	0,729	1,185	38,481	
5,136	0,647	1,185	45,401	
7,704	0,564	1,185	52,405	
12,840	0,424	1,185	64,219	
19,260	0,193	1,185	83,713	



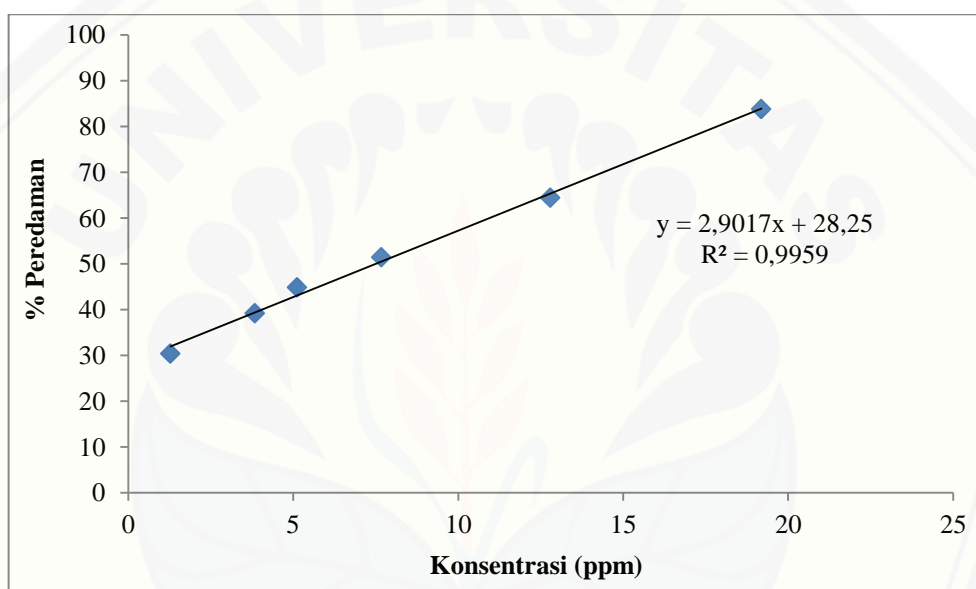
- Replikasi 2

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,274	0,822	1,185	30,633	7,439
3,823	0,733	1,185	38,143	
5,098	0,644	1,185	45,654	
7,646	0,572	1,185	51,730	
12,744	0,414	1,185	65,063	
19,116	0,195	1,185	83,544	



- Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,279	0,825	1,185	30,380	7,496
3,838	0,720	1,185	39,241	
5,117	0,653	1,185	44,895	
7,675	0,575	1,185	51,477	
12,792	0,421	1,185	64,473	
19,188	0,192	1,185	83,797	



$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{7,514+7,439+7,496}{3} = 7,483 \mu\text{g/ml}$$

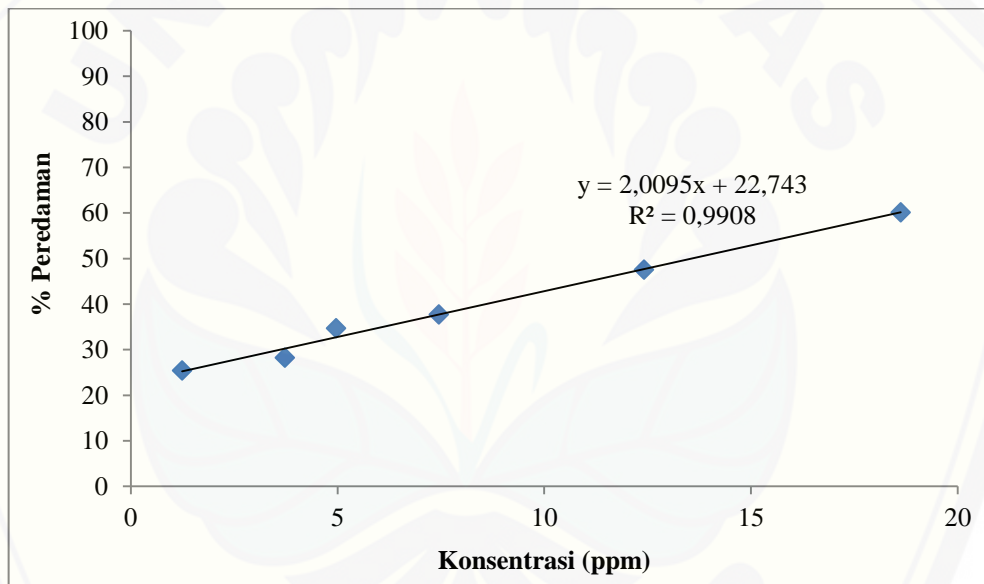
$$\text{SD} = 0,039$$

$$\text{RSD} = 0,524\%$$

I.5 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

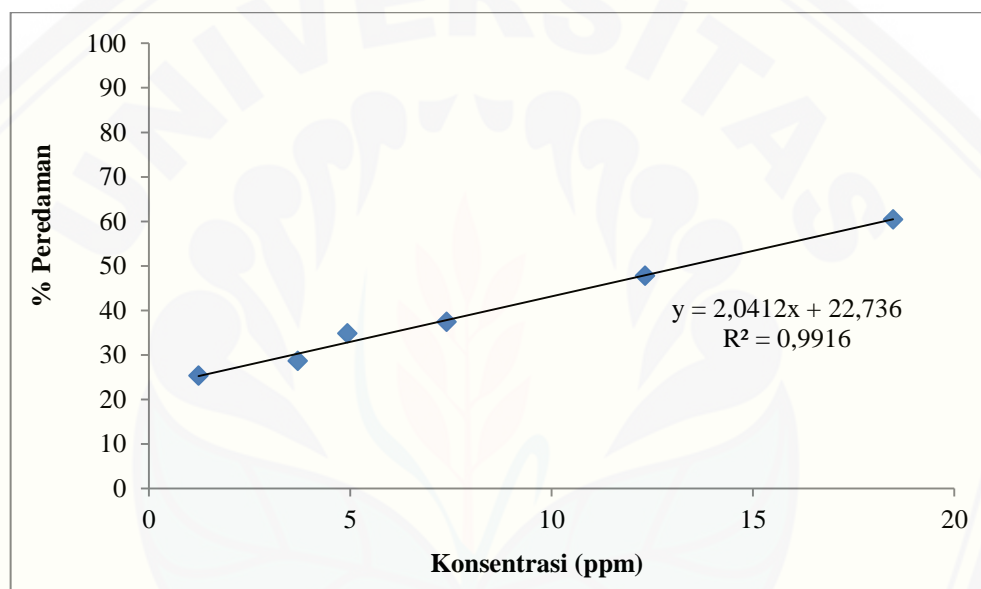
- Replikasi 1

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,242	0,815	1,093	25,435	13,564
3,725	0,784	1,093	28,271	
4,966	0,714	1,093	34,675	
7,450	0,681	1,093	37,694	
12,416	0,573	1,093	47,575	
18,624	0,436	1,093	60,110	



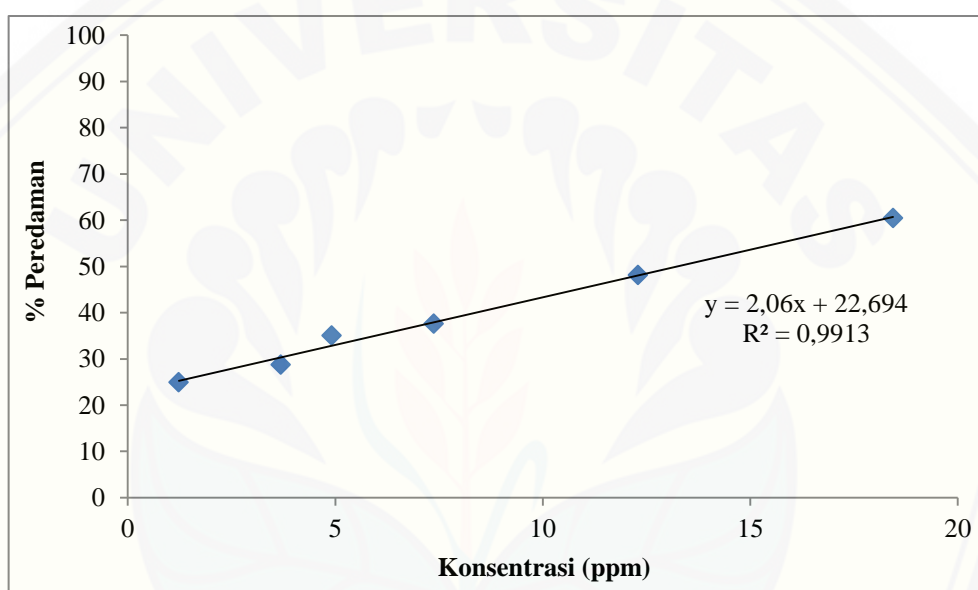
- Replikasi 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,232	0,816	1,093	25,343	13,357
3,696	0,780	1,093	28,637	
4,928	0,712	1,093	34,858	
7,392	0,684	1,093	37,420	
12,320	0,571	1,093	47,758	
18,480	0,432	1,093	60,476	



- Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,230	0,820	1,093	24,977	13,255
3,689	0,779	1,093	28,728	
4,918	0,710	1,093	35,041	
7,378	0,682	1,093	37,603	
12,296	0,567	1,093	48,124	
18,444	0,432	1,093	60,476	



$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{13,564 + 13,357 + 13,255}{3} = 13,255$$

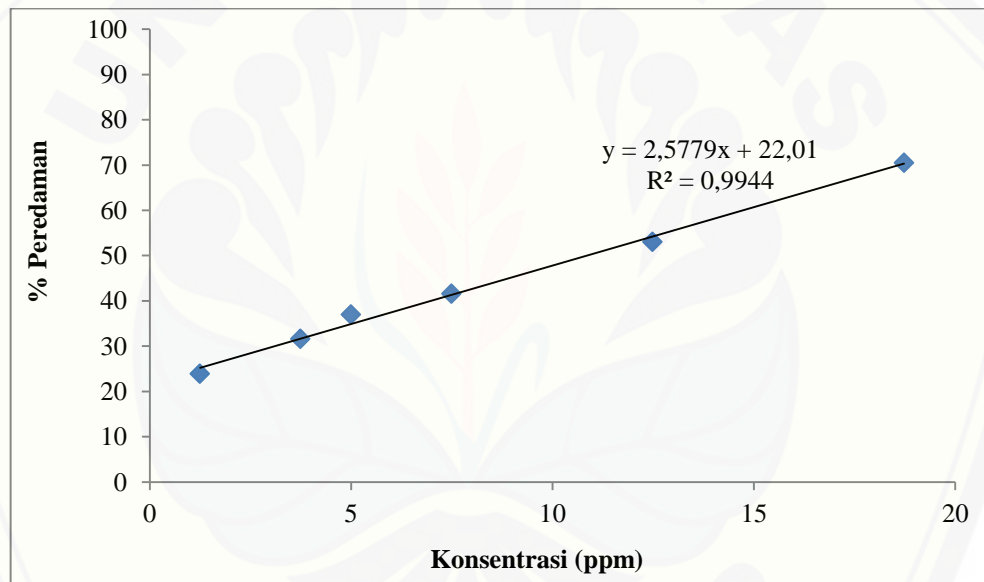
$$\text{SD} = 0,1574$$

$$\text{RSD} = 1,175\%$$

I.6 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

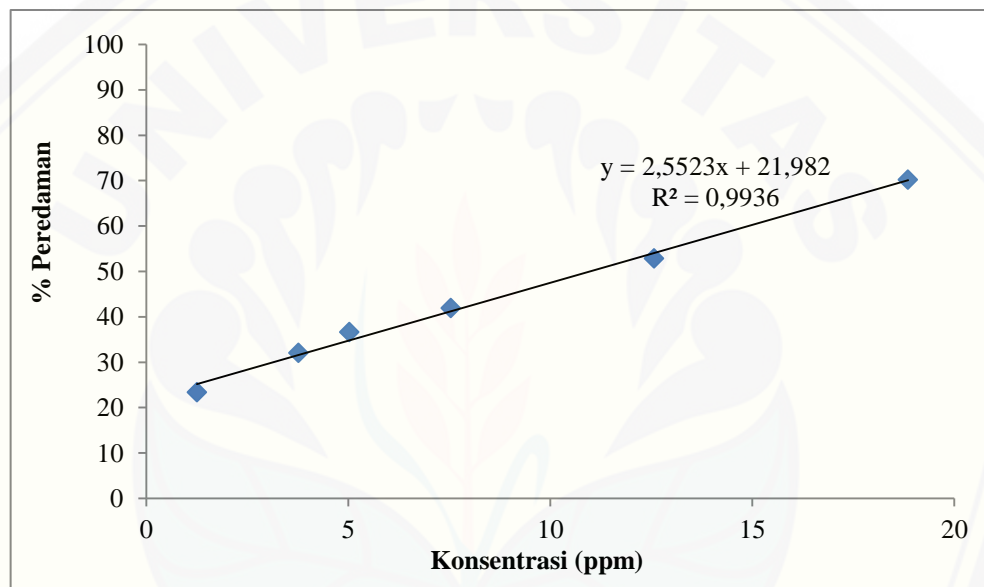
- Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,249	0,860	1,130	23,894	10,858
3,746	0,773	1,130	31,593	
4,995	0,712	1,130	36,991	
7,493	0,660	1,130	41,593	
12,488	0,531	1,130	53,009	
18,732	0,333	1,130	70,531	



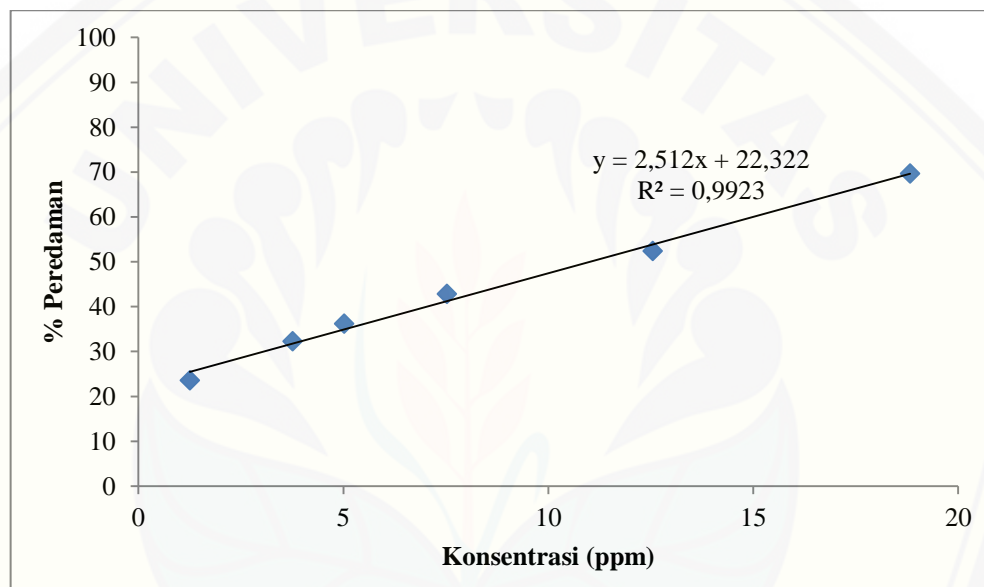
- Replikasi 2

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,257	0,866	1,130	23,363	10,978
3,770	0,768	1,130	32,035	
5,027	0,716	1,130	36,637	
7,541	0,656	1,130	41,947	
12,568	0,533	1,130	52,832	
18,852	0,337	1,130	70,177	



- Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Sampel	Absorbansi DPPH	% Peredaman	IC ₅₀
1,255	0,864	1,130	23,540	11,018
3,766	0,765	1,130	32,301	
5,021	0,721	1,130	36,195	
7,531	0,646	1,130	42,832	
12,552	0,538	1,130	52,389	
18,828	0,343	1,130	69,646	

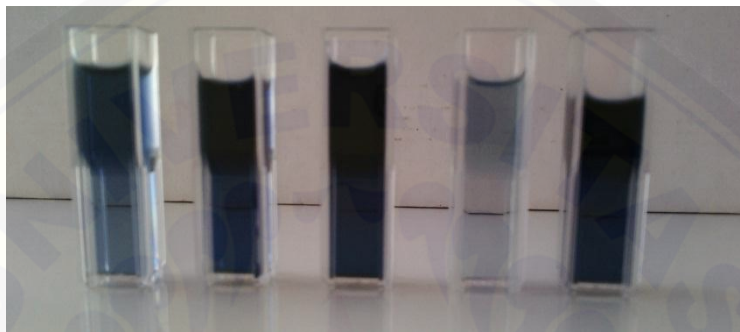
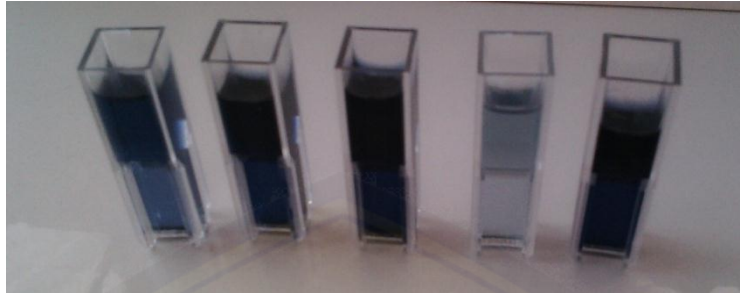


$$\text{Rata-rata IC}_{50} = \frac{10,858 + 10,978 + 11,018}{3} = 10,951 \text{ µg/ml}$$

$$\text{SD} = 0,084$$

$$\text{RSD} = 0,762\%$$

Lampiran J. Gambar Penetapan Kadar Fenol Total



Lampiran K. Data Absorbansi Penetapan Kadar Fenol

K.1 Asam Galat

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 8730118
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 300nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

All Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.668	739.0	0.669	739.0	0.670	737.0	0.671
798.0	0.673	735.0	0.674	734.0	0.675	733.0	0.676
792.0	0.678	731.0	0.679	730.0	0.680	730.0	0.682
788.0	0.682	727.0	0.684	726.0	0.688	725.0	0.687
784.0	0.688	723.0	0.690	722.0	0.691	721.0	0.692
780.0	0.692	719.0	0.694	718.0	0.695	717.0	0.696
776.0	0.697	715.0	0.698	714.0	0.700	713.0	0.701
772.0	0.702	711.0	0.703	710.0	0.704	709.0	0.705
768.0	0.706	707.0	0.707	706.0	0.708	705.0	0.709
764.0	0.711	703.0	0.711	702.0	0.712	701.0	0.713
760.0	0.713	700.0	0.712	700.0	0.712	700.0	0.713
756.0	0.713	700.0	0.713	700.0	0.713	700.0	0.713
752.0	0.713	700.0	0.713	700.0	0.713	700.0	0.713
748.0	0.707	747.0	0.708	746.0	0.708	745.0	0.704
744.0	0.703	743.0	0.703	742.0	0.705	741.0	0.707
740.0	0.711	739.0	0.715	738.0	0.713	737.0	0.720
736.0	0.721	735.0	0.722	734.0	0.721	733.0	0.721
732.0	0.726	731.0	0.720	730.0	0.720	729.0	0.713
728.0	0.719	727.0	0.718	726.0	0.718	725.0	0.713
724.0	0.715	723.0	0.717	722.0	0.717	721.0	0.717
720.0	0.716	719.0	0.716	718.0	0.716	717.0	0.715
716.0	0.715	715.0	0.714	714.0	0.714	713.0	0.714
712.0	0.713	711.0	0.713	710.0	0.712	709.0	0.712
708.0	0.711	707.0	0.710	706.0	0.710	705.0	0.709
704.0	0.709	703.0	0.708	702.0	0.707	701.0	0.708
700.0	0.706	699.0	0.705	698.0	0.704	697.0	0.704
696.0	0.703	695.0	0.702	694.0	0.702	693.0	0.701
692.0	0.700	691.0	0.699	690.0	0.698	689.0	0.697
688.0	0.697	687.0	0.696	686.0	0.695	685.0	0.694
684.0	0.693	683.0	0.692	682.0	0.692	681.0	0.691
680.0	0.690	679.0	0.689	678.0	0.688	677.0	0.688
676.0	0.687	675.0	0.686	674.0	0.685	673.0	0.684
672.0	0.684	671.0	0.683	670.0	0.682	669.0	0.681
668.0	0.680	667.0	0.679	666.0	0.678	665.0	0.677
664.0	0.677	663.0	0.676	662.0	0.675	661.0	0.674
660.0	0.673	659.0	0.673	658.0	0.672	657.0	0.671
656.0	0.670	655.0	0.670	654.0	0.669	653.0	0.668
652.0	0.667	651.0	0.666	650.0	0.665	649.0	0.664
648.0	0.664	647.0	0.663	646.0	0.662	645.0	0.661
644.0	0.660	643.0	0.659	642.0	0.658	641.0	0.657
640.0	0.657	639.0	0.656	638.0	0.655	637.0	0.654
636.0	0.653	635.0	0.652	634.0	0.651	633.0	0.650
632.0	0.648	631.0	0.648	630.0	0.647	629.0	0.646
628.0	0.645	627.0	0.644	626.0	0.643	625.0	0.642
624.0	0.640	623.0	0.639	622.0	0.638	621.0	0.637
620.0	0.636	619.0	0.635	618.0	0.634	617.0	0.633
616.0	0.632	615.0	0.630	614.0	0.629	613.0	0.628
612.0	0.627	611.0	0.626	610.0	0.625	609.0	0.623
608.0	0.622	607.0	0.621	606.0	0.620	605.0	0.619
604.0	0.617	603.0	0.616	602.0	0.614	601.0	0.613
600.0	0.610	599.0	0.605	598.0	0.602	597.0	0.601
596.0	0.600	595.0	0.599	594.0	0.598	593.0	0.597
592.0	0.596	591.0	0.596	590.0	0.596	589.0	0.596
588.0	0.592	587.0	0.591	586.0	0.591	585.0	0.591
584.0	0.588	583.0	0.588	582.0	0.589	581.0	0.589
580.0	0.584	579.0	0.585	578.0	0.584	577.0	0.584
576.0	0.580	575.0	0.580	574.0	0.580	573.0	0.580
572.0	0.576	571.0	0.577	570.0	0.574	569.0	0.573
568.0	0.572	567.0	0.572	566.0	0.572	565.0	0.572
564.0	0.568	563.0	0.567	562.0	0.567	561.0	0.567

552.0	0.530	551.0	0.528	550.0	0.527	549.0	0.525
549.0	0.523	547.0	0.522	548.0	0.520	545.0	0.519
544.0	0.517	543.0	0.515	542.0	0.513	541.0	0.512
540.0	0.510	539.0	0.508	538.0	0.507	537.0	0.505
536.0	0.504	535.0	0.502	534.0	0.501	533.0	0.499
533.0	0.497	531.0	0.495	530.0	0.494	529.0	0.492
528.0	0.489	527.0	0.487	526.0	0.485	525.0	0.484
524.0	0.482	523.0	0.481	522.0	0.479	521.0	0.477
520.0	0.474	519.0	0.471	518.0	0.469	517.0	0.468
513.0	0.464	512.0	0.462	514.0	0.460	513.0	0.457
508.0	0.458	511.0	0.453	510.0	0.450	509.0	0.443
504.0	0.448	507.0	0.443	506.0	0.441	505.0	0.439
500.0	0.437	503.0	0.435	502.0	0.433	501.0	0.431
498.0	0.429	499.0	0.427	498.0	0.425	497.0	0.422
492.0	0.420	495.0	0.418	494.0	0.416	493.0	0.415
490.0	0.413	491.0	0.411	490.0	0.408	489.0	0.406
488.0	0.404	487.0	0.402	486.0	0.398	485.0	0.397
484.0	0.395	483.0	0.393	482.0	0.391	481.0	0.390
480.0	0.388	479.0	0.386	478.0	0.384	477.0	0.382
476.0	0.380	475.0	0.378	474.0	0.377	473.0	0.375
472.0	0.372	471.0	0.370	470.0	0.368	469.0	0.366
468.0	0.364	467.0	0.362	466.0	0.360	465.0	0.357
464.0	0.355	463.0	0.353	462.0	0.351	461.0	0.348
460.0	0.348	459.0	0.343	458.0	0.341	457.0	0.339
456.0	0.341	455.0	0.334	454.0	0.332	453.0	0.332
452.0	0.332	451.0	0.324	450.0	0.322	449.0	0.316
448.0	0.327	447.0	0.315	446.0	0.312	445.0	0.310
444.0	0.307	443.0	0.305	442.0	0.302	441.0	0.300
440.0	0.297	439.0	0.295	438.0	0.292	437.0	0.290
436.0	0.288	435.0	0.285	434.0	0.283	433.0	0.281
432.0	0.278	431.0	0.276	430.0	0.274	429.0	0.272
428.0	0.270	427.0	0.266	426.0	0.267	425.0	0.265
424.0	0.263	423.0	0.261	422.0	0.259	421.0	0.257
420.0	0.256	419.0	0.255	418.0	0.253	417.0	0.252
416.0	0.251	415.0	0.250	414.0	0.249	413.0	0.248
412.0	0.247	411.0	0.246	410.0	0.245	409.0	0.245
408.0	0.245	407.0	0.245	406.0	0.245	405.0	0.244
404.0	0.244	403.0	0.244	402.0	0.244	401.0	0.245
400.0	0.245						

K.2 Standar Asam Galat

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.453	2	0.641	3	1.327	4	2.051
5	2.658						

K.3 Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	2.602	2	2.745	3	2.699

K.4 Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.379	2	0.371	3	0.376

K.5 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	2.824	2	2.721	3	2.854

K.6 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	2.456	2	2.357	3	2.409

K.7 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	1.282	2	1.280	3	1.293

Lampiran L. Pembuatan Larutan pada Penetapan Kadar Fenol Total

L.1 Larutan Standar Asam Galat

- Larutan Induk 1 = $\frac{25,0 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Larutan Induk 2 = $\frac{25,2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 2520 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Pengenceran

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 756 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

a) $\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50 \text{ } \mu\text{g/ml}$

b) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 756 \text{ } \mu\text{g/ml} = 75,600 \text{ } \mu\text{g/ml}$

c) $\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 756 \text{ } \mu\text{g/ml} = 151,200 \text{ } \mu\text{g/ml}$

d) $\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2520 \text{ } \mu\text{g/ml} = 252 \text{ } \mu\text{g/ml}$

e) $\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 300 \text{ } \mu\text{g/ml}$

L.2 Larutan Uji Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

- Replikasi 1 : $\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1004 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2 : $\frac{25,6 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1024 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3 : $\frac{25,4 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1016 \text{ } \mu\text{g/ml}$

L.3 Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

- Replikasi 1 : $\frac{24,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 980 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2 : $\frac{24,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 964 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3 : $\frac{24,4 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 976 \text{ } \mu\text{g/ml}$

L.4 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

- Replikasi 1 : $\frac{24,7 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 988 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2 : $\frac{24,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 980 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3 : $\frac{24,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 996 \text{ } \mu\text{g/ml}$

L.5 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

- Replikasi 1 : $\frac{31,4 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1256 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2 : $\frac{29,7 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1188 \text{ } \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3 : $\frac{31,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{1} = 1244 \text{ } \mu\text{g/ml}$

L.6 Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

- Replikasi 1 : $\frac{24,6 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 984 \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 2 : $\frac{24,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 980 \mu\text{g/ml}$

- Replikasi 3 : $\frac{24,9 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{l}} = 996 \mu\text{g/ml}$

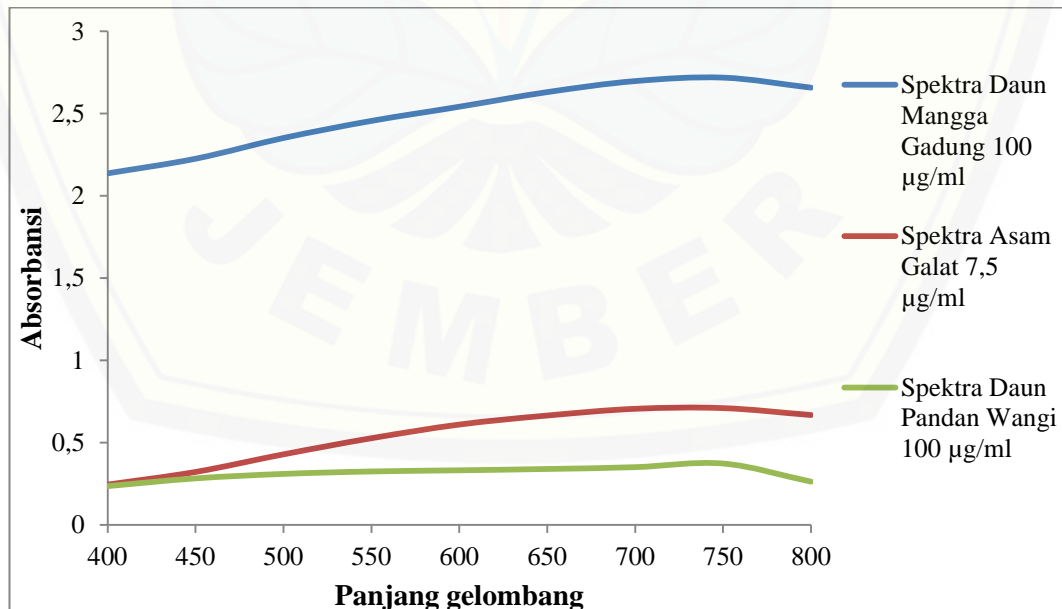
Lampiran M. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%

$$\frac{7,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{3,75 \text{ g}}{50 \text{ ml}}$$

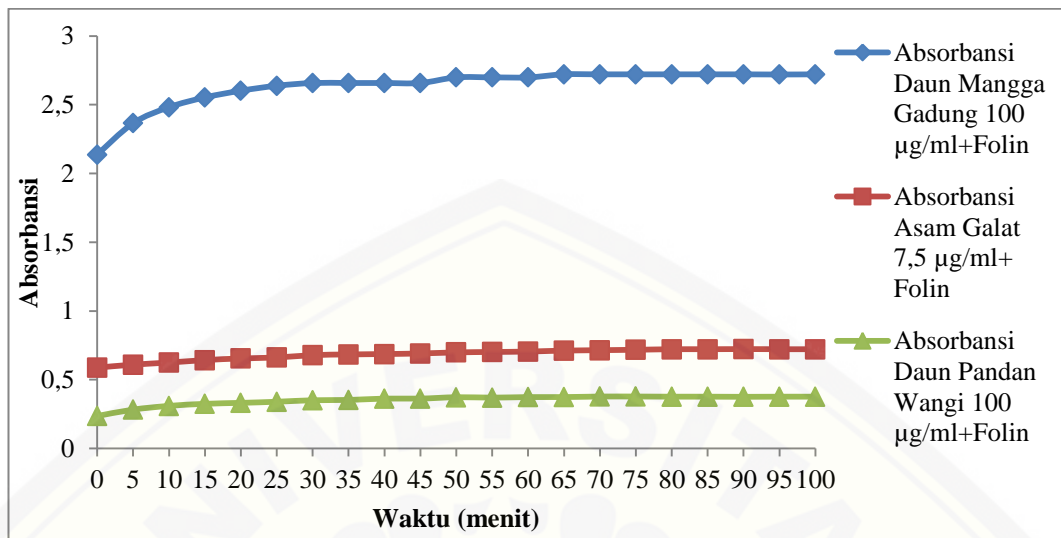
Ditimbang 3,75 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam aquadest ad 50 ml

Lampiran N. Hasil Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Fenol

Data Mode : ABS
Scan Range : 800,0-400,0 nm
Slide Width : 4 nm
Speed (nm/min) : 800 nm/min
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Lampiran O. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi



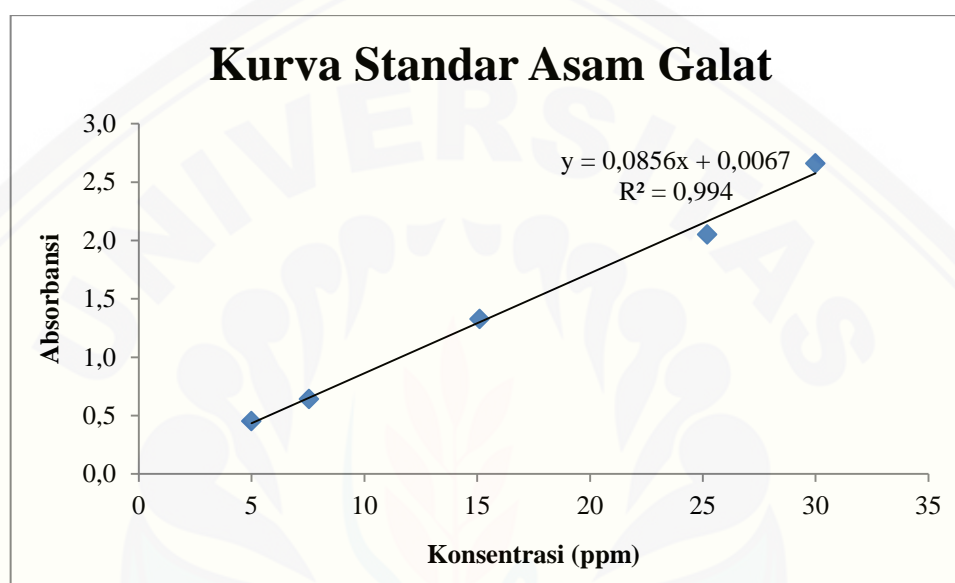
Waktu (menit)	Absorbansi		
	Daun Mangga Gadung 100 µg/ml+DPPH	Daun Pandan Wangi 100 µg/ml+DPPH	Asam Galat 7,5 µg/ml+DPPH
0	2,137	0,236	0,588
5	2,366	0,283	0,610
10	2,482	0,310	0,625
15	2,553	0,325	0,643
20	2,602	0,332	0,655
25	2,638	0,340	0,662
30	2,658	0,351	0,679
35	2,658	0,353	0,684
40	2,658	0,363	0,687
45	2,658	0,363	0,691
50	2,699	0,373	0,699
55	2,699	0,370	0,702
60	2,699	0,374	0,705
65	2,721	0,374	0,712
70	2,721	0,378	0,715
75	2,721	0,378	0,718
80	2,721	0,377	0,722
85	2,721	0,377	0,722
90	2,721	0,376	0,723
95	2,720	0,377	0,722
100	2,721	0,377	0,722

Lampiran P. Perhitungan Hasil Pengukuran Kadar Fenol Total

Sampel	Penimbangan (mg)	Kadar Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)	Rata-rata (mg GAE/g ekstrak)	SD	RSD (%)
Ekstrak daun mangga gadung tunggal	25,1 mg	301,981	307,982	5,386	1,749
	25,6 mg	312,397			
	25,4 mg	309,568			
Ekstrak daun pandan wangi tunggal	24,5 mg	44,381	44,244	0,122	0,275
	24,1 mg	44,148			
	24,4 mg	44,203			
Kombinasi M : P Perbandingan 2 : 1	24,7 mg	333,121	330,216	5,778	1,750
	24,5 mg	323,562			
	24,9 mg	333,964			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 1	31,4 mg	227,813	228,176	2,778	1,218
	29,7 mg	231,118			
	31,1 mg	225,597			
Kombinasi M : P Perbandingan 1 : 2	24,6 mg	151,406	151,355	0,459	0,303
	24,5 mg	151,786			
	24,9 mg	150,872			

Standar : Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi
50	0,453
75	0,641
150	1,327
250	2,051
300	2,658



P.1 Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung Tunggal

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Massa dalam 3 ml (μg)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mg GAE/g ekstrak)
1	2,602	30,319	90,957	7,580	301,981
2	2,745	31,989	95,968	7,997	312,397
3	2,699	31,452	94,356	7,863	309,568

Rata-rata kadar fenol total = 307,982 mg GAE/g ekstrak

SD = 5,386

RSD = 1,749%

P.2 Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Tunggal

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Massa dalam 3 ml (μg)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mg GAE/g ekstrak)
1	0,379	4,349	13,048	1,087	44,381
2	0,371	4,256	12,768	1,064	44,148
3	0,376	4,314	12,943	1,079	44,203

Rata-rata kadar fenol total = 44,244 mg GAE/g ekstrak

SD = 0,122

RSD = 0,275%

P.3 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (2 : 1)

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Massa dalam 3 ml (μg)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mg GAE/g ekstrak)
1	2,824	32,912	98,737	8,228	333,121
2	2,721	31,709	95,127	7,927	323,562
3	2,854	33,263	99,789	8,316	333,964

Rata-rata kadar fenol total = 330,216 mg GAE/g ekstrak

SD = 5,778

RSD = 1,750%

P.4 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 1)

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Massa dalam 3 ml (μg)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mg GAE/g ekstrak)
1	2,456	28,613	85,840	7,153	227,813
2	2,357	27,457	82,370	6,864	231,118
3	2,409	28,064	84,193	7,016	225,597

Rata-rata kadar fenol total = 228,176 mg GAE/g ekstrak

SD = 2,778

RSD = 1,218%

P.5 Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung : Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (1 : 2)

Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Massa dalam 3 ml (μg)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mg GAE/g ekstrak)
1	1,282	14,898	44,695	3,725	151,406
2	1,280	14,875	44,625	3,719	151,786
3	1,293	15,027	45,081	3,757	150,872

Rata-rata kadar fenol total = 151,355 mg GAE/g ekstrak

SD = 0,459

RSD = 0,303%

Lampiran Q. Hasil Uji Anova dan LSD

Q.1 Aktivitas Antioksidan

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Standar Vit.C	.351	3	.	.828	3	.183
Mangga gadung	.346	3	.	.837	3	.206
Pandan wangi	.316	3	.	.890	3	.353
Kombinasi M : P (2:1)	.297	3	.	.917	3	.443
Kombinasi M : P (1:1)	.255	3	.	.963	3	.630
Kombinasi M : P (1:2)	.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.515	5	12	.047

ANOVA

IC50	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2850.879	5	570.176	3.103E3	.000
Within Groups	2.205	12	.184		
Total	2853.084	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

IC50

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Standar Vit.C	Mangga gadung	-.650333	.349986	.000	-1.71938	.41871
	Pandan wangi	-37.086667*	.349986	.000	-38.15571	-36.01762
	Kombinasi M : P (2:1)	-4.870000*	.349986	.000	-5.93905	-3.80095
	Kombinasi M : P (1:1)	-10.779000*	.349986	.000	-11.84805	-9.70995
	Kombinasi M : P (1:2)	-8.338333*	.349986	.000	-9.40738	-7.26929
Mangga gadung	Standar Vit.C	.650333	.349986	.000	-.41871	1.71938
	Pandan Wangi	-36.436333*	.349986	.000	-37.50538	-35.36729
	Kombinasi M : P (2:1)	-4.219667*	.349986	.000	-5.28871	-3.15062
	Kombinasi M : P (1:1)	-10.128667*	.349986	.000	-11.19771	-9.05962
	Kombinasi M : P (1:2)	-7.688000*	.349986	.000	-8.75705	-6.61895
Pandan wangi	Standar Vit.C	37.086667*	.349986	.000	36.01762	38.15571
	Mangga gadung	36.436333*	.349986	.000	35.36729	37.50538
	Kombinasi M : P (2:1)	32.216667*	.349986	.000	31.14762	33.28571
	Kombinasi M : P (1:1)	26.307667*	.349986	.000	25.23862	27.37671
	Kombinasi M : P (1:2)	28.748333*	.349986	.000	27.67929	29.81738
Kombinasi M : P (2:1)	Standar Vit.C	4.870000*	.349986	.000	3.80095	5.93905
	Mangga gadung	4.219667*	.349986	.000	3.15062	5.28871

	Pandan wangi	-32.216667*	.349986	.000	-33.28571	-31.14762
	Kombinasi M : P (1:1)	-5.909000*	.349986	.000	-6.97805	-4.83995
	Kombinasi M : P (1:2)	-3.468333*	.349986	.000	-4.53738	-2.39929
Kombinasi M : P Standar Vit.C (1:1)		10.779000*	.349986	.000	9.70995	11.84805
	Mangga gadung	10.128667*	.349986	.000	9.05962	11.19771
	Pandan wangi	-26.307667*	.349986	.000	-27.37671	-25.23862
	Kombinasi M : P (2:1)	5.909000*	.349986	.000	4.83995	6.97805
	Kombinasi M : P (1:2)	2.440667*	.349986	.000	1.37162	3.50971
Kombinasi M : P Standar Vit.C (1:2)		8.338333*	.349986	.000	7.26929	9.40738
	Mangga gadung	7.688000*	.349986	.000	6.61895	8.75705
	Pandan wangi	-28.748333*	.349986	.000	-29.81738	-27.67929
	Kombinasi M : P (2:1)	3.468333*	.349986	.000	2.39929	4.53738
	Kombinasi M : P (1:1)	-2.440667*	.349986	.000	-3.50971	-1.37162

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Q.2 Kadar Fenol Total

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GAE Mangga gadung	.282	3	.	.935	3	.508
Pandan wangi	.298	3	.	.915	3	.435
Kombinasi M : P (2:1)	.359	3	.	.810	3	.139
Kombinasi M : P (1:1)	.219	3	.	.987	3	.783
Kombinasi M : P (1:2)	.217	3	.	.988	3	.789

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

GAE

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.615	4	10	.012

ANOVA

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	165807.113	4	41451.778	2.947E3	.000
Within Groups	140.656	10	14.066		
Total	165947.769	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

GAE

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Mangga gadung	Pandan wangi	263.738000*	3.06220 2	.000	254.03305	273.44295
	Kombinasi M : P (2:1)	-22.233667*	3.06220 2	.000	-31.93862	-12.52871
	Kombinasi M : P (1:1)	79.806000*	3.06220 2	.000	70.10105	89.51095
	Kombinasi M : P (1:2)	156.633333*	3.06220 2	.000	146.92838	166.33829
Pandan wangi	Mangga gadung	-263.738000*	3.06220 2	.000	-273.44295	-254.03305
	Kombinasi M : P (2:1)	-285.971667*	3.06220 2	.000	-295.67662	-276.26671
	Kombinasi M : P (1:1)	-183.932000*	3.06220 2	.000	-193.63695	-174.22705
	Kombinasi M : P (1:2)	-107.104667*	3.06220 2	.000	-116.80962	-97.39971
Kombinasi M : P Mangga gadung (2:1)	Pandan wangi	22.233667*	3.06220 2	.000	12.52871	31.93862
	Kombinasi M : P (1:1)	102.039667*	3.06220 2	.000	92.33471	111.74462
	Kombinasi M : P (1:2)	178.867000*	3.06220 2	.000	169.16205	188.57195
	Pandan wangi	285.971667*	3.06220 2	.000	276.26671	295.67662
Kombinasi M : P Mangga gadung (1:1)	Pandan wangi	-79.806000*	3.06220 2	.000	-89.51095	-70.10105
	Mangga gadung	183.932000*	3.06220 2	.000	174.22705	193.63695

Kombinasi M : P (2:1)	- 102.039667*	3.06220 2	.000	-111.74462	-92.33471
Kombinasi M : P (1:2)	76.827333*	3.06220 2	.000	67.12238	86.53229
Kombinasi M : P Mangga gadung (1:2)	- 156.633333*	3.06220 2	.000	-166.33829	-146.92838
Pandan wangi	107.104667*	3.06220 2	.000	97.39971	116.80962
Kombinasi M : P (2:1)	- 178.867000*	3.06220 2	.000	-188.57195	-169.16205
Kombinasi M : P (1:1)	-76.827333*	3.06220 2	.000	-86.53229	-67.12238

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Lampiran R. Sertifikat Determinasi Tanaman Sampel**R.1 Mangga Gadung**

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 62.9/UN25.1.9/TU/2016,

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Dewi Kusumaningrum P.
NIM : 122210101049
Jur./Fak./PT : Fak Farmasi / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :
Mangifera indica L. 'Gadung'. {Family – Anacardiaceae ; Vernacular name –; Pelem Gadung (Jaw.), Mangga Gadung (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 Juni 2016

Ketua Laboratorium



Mengesahui,
Penanggung Jawab,
Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001


Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

R.2 Pandan Wangi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASINo. 1.093 /UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Muhammad Hafidi
NIM : 122210101030
Jur./Fak./PT : F. Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Pandanus amaryllifolius Roxb. {Syn. *Pandanus hasskarlii* Merr.; *Pandanus odoris* Ridl.;
Family – Pandanaceae; Vernacular name – Pandan Wangi (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 April 2016

Mengetahui,
Bertantu Dekan I,



Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001

Ketua Laboratorium

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.