



**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN  
KADAR FENOL TOTAL DAUN BENALU (*Scurrula ferruginea*  
(Jack.) Dans.) APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nur Laily Khomsiah  
NIM 132210101058**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN  
KADAR FENOL TOTAL DAUN BENALU (*Scurrula ferruginea*  
(Jack.) Dans.) APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)**

**SKRIPSI**

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

Oleh

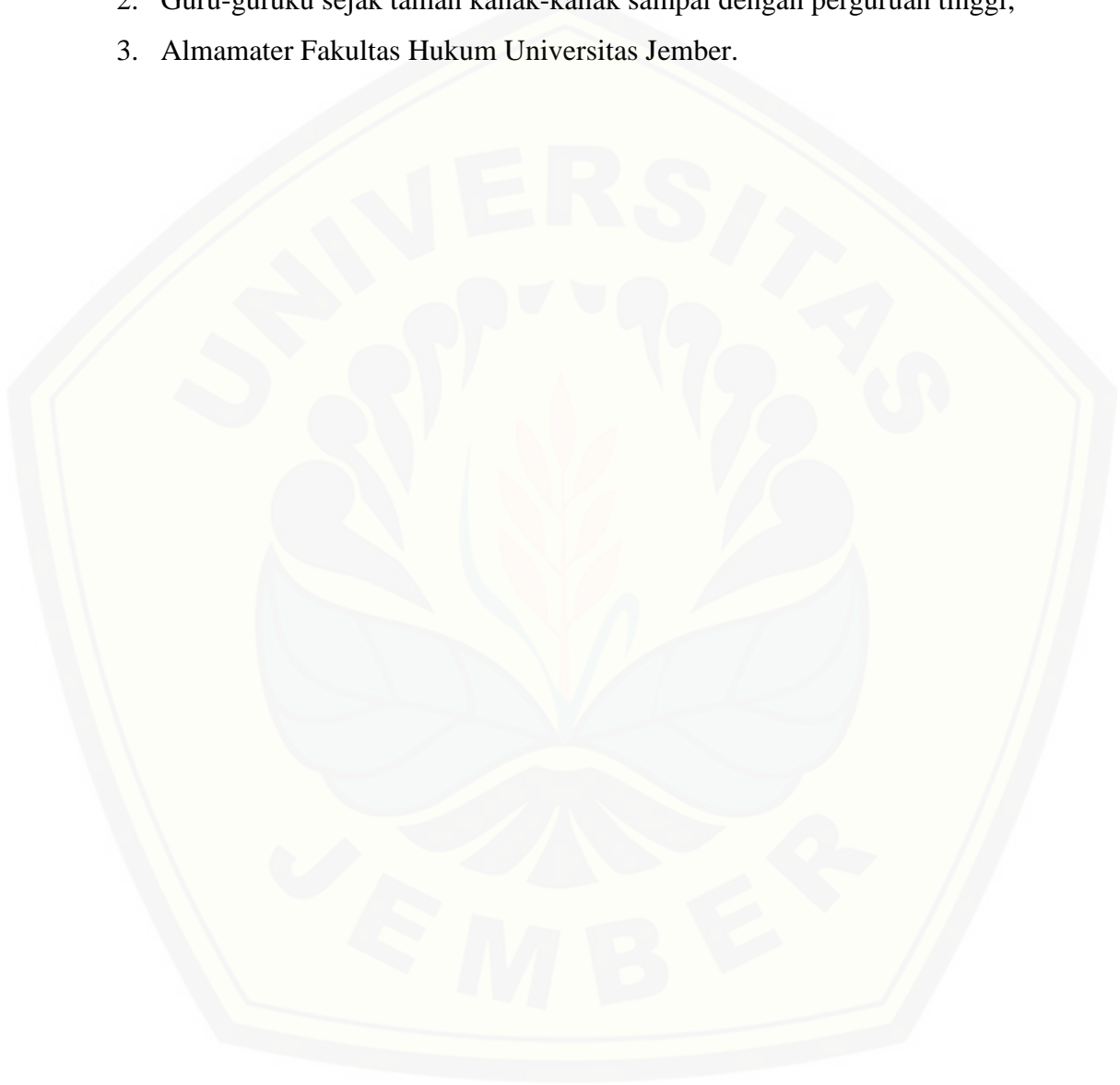
**Nur Laily Khomsiah**  
**NIM 132210101058**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

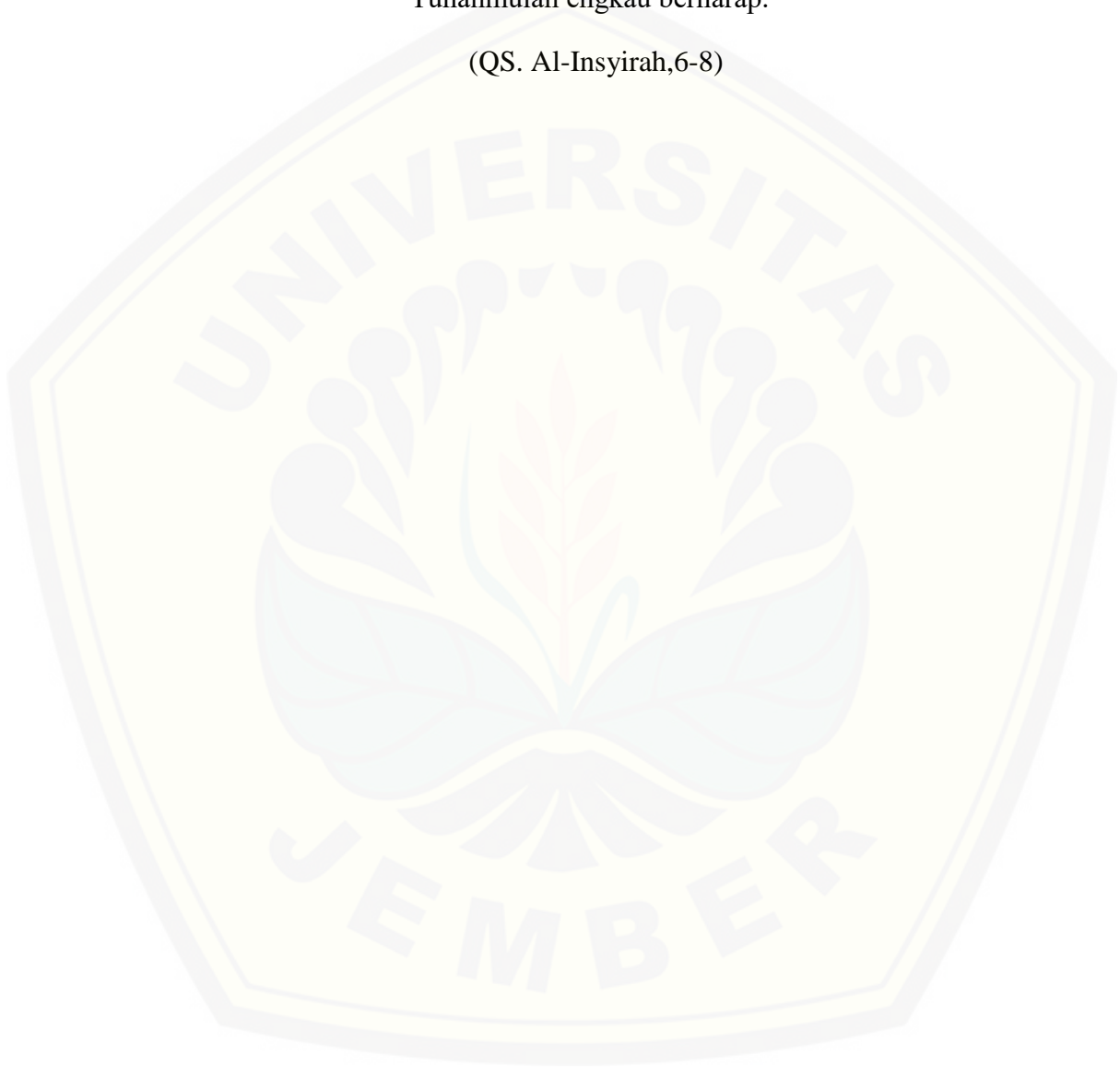
1. Ibunda Sri Rusminah dan ayahanda Hairul Saleh yang tercinta;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Hukum Universitas Jember.



**MOTO**

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”

(QS. Al-Insyirah,6-8)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nur Laily Khomsiah

NIM : 132210101058

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Daun Benalu (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.) Apel Manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 28 Juli 2017

Yang menyatakan,

Nur Laily Khomsiah

NIM 132210101058

**SKRIPSI**

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR  
FENOL TOTAL DAUN BENALU (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.)  
APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)**

Oleh

Nur Laily Khomsiah

NIM 132210101058

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Endah Puspitasari, S.Farm.,M.Sc.,Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Daun Benalu (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.) Apel Manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)” karya Nur Laily Khomsiah telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 28 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Pembimbing,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

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

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

Tim Penguji,

Penguji I,

Penguji II,

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

Eka Deddy Irawan, S.Si.,M.Sc.,Apt.  
NIP. 197530092001121001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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



## RINGKASAN

**Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Daun Benalu (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.) Apel Manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.); Nur Laily Khomsiah,132210101058; 2017: halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.**

Indonesia menempati peringkat ke-5 dengan tingkat kematian tertinggi akibat penyakit degeneratif. Salah satu penyebab penyakit degeneratif yaitu stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan pertahanan antioksidan dalam tubuh. Antioksidan dalam tubuh diperlukan untuk mencapai konsentrasi radikal bebas yang rendah. Salah satu sumber antioksidan dari luar tubuh adalah tumbuhan. *Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans. merupakan salah satu tumbuhan yang mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan *S. ferruginea* telah banyak diketahui pada berbagai inang. Aktivitas dan kandungan senyawa dari benalu juga dipengaruhi oleh inang. Pada penelitian ini digunakan *S. ferruginea* pada apel manalagi yang diduga juga memiliki aktivitas antioksidan karena apel telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan.

Fraksinasi dilakukan untuk membandingkan efektivitas pelarut yang mampu mengambil senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan senyawa fenol. Fraksinasi dilakukan menggunakan partisi cair-cair dengan pelarut berturut-turut, yaitu pelarut n-heksana dan etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH dengan pembanding vitamin C, sedangkan untuk penetapan kadar fenol total menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan dari vitamin C, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut sebesar  $3,393 \pm 0,0327$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $5,648 \pm 0,0604$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $22,929 \pm 0,0506$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $3,734 \pm 0,0344$   $\mu\text{g/ml}$ ; dan  $6,105 \pm 0,0895$   $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan kadar fenol total yang didapat dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut sebesar  $647,71 \pm 1,5464$ ;  $134,44 \pm 1,5379$ ;  $712,85 \pm 1,6455$ ; dan  $445,34 \pm 1,6651$  mg GAE/g ekstrak. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dan kadar fenol total tertinggi pada penelitian ini. Hasil analisis aktivitas antioksidan dan kadar fenol total pada sampel menunjukkan nilai  $p < 0,01$  yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan dan kadar fenol total pada sampel. Kadar fenol total dan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menunjukkan korelasi negatif dan signifikan.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Daun Benalu (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.) Apel Manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. ALLAH SWT. yang telah memberikan karunia kehidupan sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini.
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Siti Muslichah, S.Si.,M.Sc.,Apt. dan Ibu Ika Puspita Dewi, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt. dan Ibu Endah Puspitasari, S.Farm.,M.Sc.,Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. dan Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si.,M.Sc.,Apt., selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Kedua orang tuaku Ibunda Sri Rusminah dan Ayahanda Hairul Saleh yang selama ini telah memberikan dorongan dan do'anya demi terselesaikannya karya tulis ini;
7. Laboran Laboratorium Kimia Analisis Bu Wayan dan Mbak Hanny yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;
8. Sahabatku Muhammad Turmuzi, “CENGO”, “Geng Nero” (Amirotu Sajidah, Hairunnisyah Asfarina, Atika Sari D. P. dan Fathimatuzzahrah), serta Sahabat sedari SMA (Nurlita Lailia, Febrina S. R., Ismawati S. P., dan Yulistiana S.)

yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama ini;

9. Keluarga Besar Farmasetamol FF UNEJ 2013 yang telah berjuang bersama;
10. Kawan seperjuangan Benalu, Aini Zuhriyah dan Muhammad Ridlo, serta Kawan *Chemistry Squad* yang telah membantu dalam proses penyelesaian tugas akhir ini;
11. Seluruh Pengurus KARISMA Periode 2015-20165 yang telah membantu berjuang menjalankan roda kepemimpinan;
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

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

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang <i>S. ferruginea</i>.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Nama Lain.....	5
2.1.3 Deskripsi .....	5
2.1.4 Penelitian Terdahulu tentang <i>S. ferruginea</i> .....	6
<b>2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Tinjauan Umum Senyawa Fenol.....</b>	<b>14</b>
<b>2.4 Tinjauan Umum Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan <i>in vitro</i>.....</b>	<b>16</b>
2.4.1 Pengujian Berdasarkan Reaksi HAT.....	17
2.4.2 Pengujian Berdasarkan Reaksi ET.....	17

2.5	Tinjauan Umum Metode Penetapan Kadar Fenol Total.....	21
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>		<b>23</b>
3.1	Rancangan Penelitian.....	23
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
3.3	Sampel .....	23
3.4	Variabel Penelitian .....	23
3.4.1	Variabel Bebas .....	23
3.4.2	Variabel Terikat .....	23
3.4.3	Variabel Terkendali.....	24
3.5	Definisi Operasional Penelitian.....	24
3.6	Alat dan Bahan .....	24
3.5.1	Alat.....	24
3.5.2	Bahan .....	25
3.7	Ekstraksi dan Fraksinasi .....	25
3.8	Pengujian Aktivitas Antioksidan .....	27
3.8.1	Pembuatan Larutan Uji .....	27
3.8.2	Pembuatan Larutan Pembanding .....	27
3.8.3	Pembuatan Larutan DPPH .....	27
3.8.4	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	27
3.8.5	Penentuan Waktu Inkubasi.....	28
3.8.6	Penetapan Aktivitas Antioksidan .....	28
3.8.7	Perhitungan .....	28
3.9	Penetapan Kadar Fenol Total .....	29
3.9.1	Pembuatan Larutan Standar Asam Galat .....	29
3.9.2	Pembuatan Larutan Uji .....	30
3.9.3	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	30
3.9.4	Penentuan Waktu Inkubasi.....	30
3.9.5	Pembuatan Kurva Baku Asam Galat .....	30
3.9.6	Penetapan Kadar Fenol Total .....	31
3.9.7	Perhitungan .....	31
3.10	Analisis Data .....	31

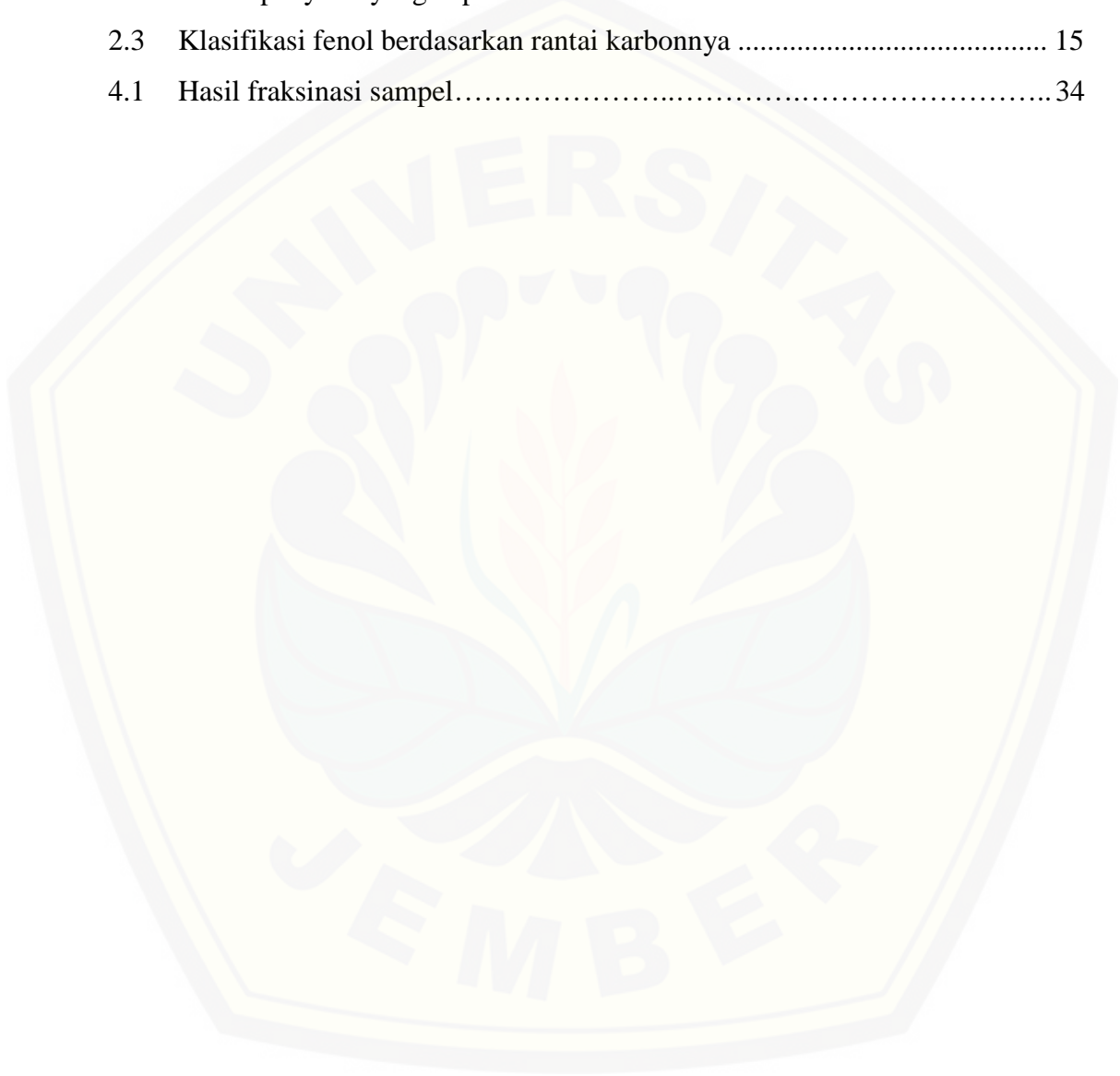
<b>3.11 Kerangka Pemecahan Masalah</b> .....	32
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	33
<b>4.1 Determinasi Tumbuhan</b> .....	33
<b>4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi</b> .....	33
<b>4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan</b> .....	34
4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	34
4.3.2 Penentuan Waktu Inkubasi.....	35
4.3.3 Penetapan Aktivitas Antioksidan .....	35
<b>4.4 Penetapan Kadar Fenol Total</b> .....	37
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	37
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi.....	38
4.4.3 Penetapan Kadar Fenol Total .....	38
<b>4.5 Korelasi antara Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan</b> .....	40
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	42
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	42
<b>5.2 Saran</b> .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 <i>S. ferruginea</i> (Jack.) Dans. ....	6
2.2 Target radikal bebas.....	10
2.3 Tahap-tahap reaksi berantai dari radikal bebas .....	10
2.4 Klasifikasi antioksidan alami.....	13
2.5 Stabilisasi resonansi pada <i>aryloxy radical</i> .....	14
2.6 Struktur fenol .....	15
2.7 Mekanisme penghambatan radikal DPPH .....	19
2.8 Asam askorbat .....	20
2.9 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol .....	22
2.10 Struktur kimia asam galat .....	22
3.1 Skema alur fraksinasi daun <i>S. ferruginea</i> .....	26
3.2 Skema kerangka pemecahan masalah.....	32
4.1 Spektra panjang gelombang serapan maksimum DPPH.....	35
4.2 Hasil pengujian aktivitas antioksidan masing-masing sampel .....	36
4.3 Spektra panjang gelombang maksimum asam galat.....	37
4.4 Hasil kadar fenol total masing-masing sampel .....	39

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Sumber radikal bebas dari eksternal .....	9
2.2 Daftar penyakit yang dapat disebabkan oleh stres oksidatif.....	11
2.3 Klasifikasi fenol berdasarkan rantai karbonnya .....	15
4.1 Hasil fraksinasi sampel.....	34





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Lembar determinasi .....	51
4.2 Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi .....	52
4.3 Perhitungan DPPH dan larutan uji .....	53
4.4 Penentuan panjang gelombang DPPH .....	58
4.5 Penentuan waktu inkubasi .....	59
4.6 Perhitungan peredaman DPPH dan IC <sub>50</sub> .....	64
4.7 Pembuatan standar dan larutan uji .....	75
4.8 Penentuan panjang gelombang penetapan kadar fenol total .....	79
4.9 Penentuan waktu inkubasi .....	80
4.10 Pengukuran kadar fenol total .....	85
4.11 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC <sub>50</sub> ) .....	89
4.12 Hasil analisis varian (ANOVA) kadar fenol total .....	91
4.13 Hasil analisis korelasi antara kadar fenol total dengan IC <sub>50</sub> .....	93

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sampai saat ini, tingkat kematian tertinggi di dunia disebabkan oleh penyakit degeneratif. Penyakit-penyakit degeneratif meliputi penyakit kardiovaskuler, kanker, diabetes, dan penyakit pernapasan akut (WHO, 2016<sup>a</sup>). Indonesia menempati urutan ke-5 setelah China (8,7 juta orang), India (5,8 juta orang), USA (2,3 juta orang), dan Rusia (1,7 juta orang) dengan tingkat kematian tertinggi di dunia yang disebabkan oleh penyakit degeneratif pada tahun 2015. Jumlah kematian di Indonesia yang diakibatkan oleh penyakit degeneratif sebanyak 1,3 juta orang dari total 1,8 juta orang dengan penyebab kanker sebanyak 213 ribu orang, diabetes sebanyak 104 ribu orang, penyakit kardiovaskuler sebanyak 655 ribu orang (dengan kasus stroke dan gagal jantung yang tertinggi) (WHO, 2016<sup>b</sup>). Salah satu faktor penyebab terjadinya penyakit-penyakit degeneratif tersebut yaitu stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi pada sel ketika produksi radikal bebas yang berlebih dan mengalami ketidakseimbangan dengan pertahanan antioksidan dalam tubuh (Wiernsperger, 2003). Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya yang akan menarik atau menyerang elektron senyawa lain, sehingga mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru (Halliwell, 1994). Target utama dari radikal bebas meliputi glukosa, lipid, protein, dan DNA/RNA (Lü *et al.*, 2010).

Radikal bebas dapat dinetralkan dan dihancurkan menggunakan antioksidan. Antioksidan dalam tubuh tidak sepenuhnya mampu dalam menurunkan konsentrasi radikal bebas ketika terjadi produksi yang berlebih, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh (Pietta, 2000). Sumber antioksidan dari luar tubuh dapat berasal dari sintetis dan alam (Sayuti & Yenrina, 2015). Antioksidan dari alam lebih efektif dalam penurunan tingkat ROS dibanding antioksidan sintetis yang dikonsumsi tunggal karena aksi sinergis dari biomolekul antioksidannya. Antioksidan dari alam sekarang ini banyak diteliti karena diketahui bahwa penggunaan antioksidan sintetis dapat menyebabkan

genotoksisitas dan karsinogenisitas pada konsentrasi tinggi (Gutteridge & Halliwell, 2010).

Semua tumbuhan dapat menjadi sumber antioksidan. Hal ini dikarenakan tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa antioksidan. Senyawa metabolit sekunder diproduksi oleh tumbuhan untuk metabolisme ROS, menghindari oksidasi yang tidak terkontrol dari biomolekul esensial, dan penting untuk adaptasi tumbuhan terhadap kondisi lingkungan yang fluktuatif. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat antioksidan antara lain adalah alkaloid, fenol, steroid, dan terpenoid. Senyawa fenol merupakan senyawa yang paling penting karena sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan *in vitro* dan *in vivo* (Kasote *et al.*, 2015).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan adalah benalu. Aktivitas antioksidan telah dilaporkan pada banyak spesies benalu, salah satunya adalah *Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans. Berdasarkan penelitian Marvibaigi *et al.* (2014), daun, batang, dan bunga *S. ferruginea* mempunyai aktivitas antioksidan. *S. ferruginea* juga menunjukkan aktivitas antioksidan pada inang kopi dengan IC<sub>50</sub> sebesar 64,02 µg/ml (Manurung, 2016) dan bunga terompet dengan IC<sub>50</sub> sebesar 60,44 µg/ml (Nganggu, 2016).

Benalu pada inang berbeda akan mempunyai aktivitas yang berbeda pula. Sebagai tumbuhan semiparasit, bioaktivitas dan kandungan senyawa yang dimiliki benalu dipengaruhi oleh inangnya (Glatzel & Geils, 2009). *Viscum album* memiliki aktivitas antioksidan berbeda pada inang dengan spesies yang berbeda (Vicas *et al.*, 2011). Berdasarkan hal tersebut, dimungkinkan jika *S. ferruginea* pada inang apel manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) juga memiliki aktivitas antioksidan. Terlebih lagi, apel sebagai inang juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan pada kulit dan daging buahnya (Drogoudi *et al.*, 2007).

Aktivitas antioksidan dari *S. ferruginea* turut disumbang oleh senyawa fenol. Fraksi etil asetat *S. ferruginea* mengandung 3 senyawa flavonol yang tergolong senyawa fenol yaitu kuersetin, kuersitrin, dan glikosida flavonol 4'-O-asetilkuersitrin (Lohézic-Le Dévéhat *et al.*, 2002a). Selain itu, hasil penapisan fitokimia *S. ferruginea* pada inang kopi menunjukkan adanya golongan senyawa

fenol berupa flavonoid dan tanin (Manurung, 2016). Penelitian *S. ferruginea* pada inang apel mengenai aktivitas antioksidan dan senyawa fenol yang terkandung di dalamnya sampai saat ini belum pernah dilakukan, sehingga peneliti ingin melihat aktivitas antioksidan dan kadar fenol total dari ekstrak etanol daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi. Fraksinasi dilakukan untuk membandingkan efektivitas pelarut yang mampu mengambil senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan senyawa fenol.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijabarkan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana efektivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi?
- b. Bagaimana perbandingan kadar fenol total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi?
- c. Adakah korelasi antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ )?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab rumusan masalah yang ada, yaitu sebagai berikut:

- a. Mengetahui efektivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.
- b. Mengetahui perbandingan kadar fenol total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.
- c. Mengetahui ada tidaknya korelasi antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ).

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

- a. Memberikan informasi mengenai potensi antioksidan daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.
- b. Memberikan informasi mengenai perbandingan data ilmiah aktivitas antioksidan dan kadar fenol total antara ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi untuk penelitian selanjutnya seperti uji aktivitas dan isolasi senyawa.
- c. Bagi peneliti dapat mengasah kemampuan dalam melakukan penelitian pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang *S. ferruginea*

#### 2.1.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi dari *S. ferruginea* menurut Cronquist (1981) dan Backer & Bakhuizen (1965), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Santalales</i>
Famili	: <i>Loranthaceae</i>
Genus	: <i>Scurrula</i>
Spesies	: <i>Scurrula ferruginea</i> (Jack.) Dans.

#### 2.1.2 Nama Lain

Sinonim dari *S. ferruginea* yaitu *Loranthus ferrugineus* Jack, *L. crisanthus* DC, *Dendrophthoe ferrugineus* G. Don., *Dendrophthoe crisanthus* G. Don., *Etubila ferrugineus* Rafin., *Loranthus crisanthoides* Korth., *Dendrophthoe crisanthoides* Miq., *Cichlanthus ferrugineus* Van Tiegh., *Cichlanthus chrysanthus* Van Tiegh., *Scurrula chrysanthoides* Danser (Anonim, 2003). Di Jawa *S. ferruginea* dikenal sebagai kemladean, pasilan, benalu, tahi burung, ambai-ambai (Lemmens & Bunyapraphatsara, 1999). Sedangkan di Malaysia dikenal sebagai dedalu, dalu-dalu, dan dedalu-api (Ameer *et al.*, 2015).

#### 2.1.3 Deskripsi

*S. ferruginea* merupakan salah satu spesies benalu dalam famili Loranthaceae yang berasal dari Malaysia, Sumatra, India, Singapura, Australia, dan Selandia Baru. Morfologi dari *S. ferruginea* dapat dilihat pada Gambar 2.1. Benalu ini berupa terna, parasit obligat dengan batang menggantung berkayu

silindris berbintik-bintik coklat. Penampilan fisik dan strukturalnya hampir bervariasi tergantung habitat asli dan usia, tetapi deskripsi dan karakteristik secara umum kurang lebih sama. Cabang dan ranting dari *S. ferruginea* panjang, menggantung, dan turun ketika muda. Daunnya tunggal, berhadapan lonjong, ujung agak meruncing, pangkal membulat tepi rata, panjang 5-9 cm, lebar 2-4 cm, permukaan atas hijau, permukaan bawah coklat. Biasanya, tangkai bunga ada sebanyak 1-4 di ketiak daun. Bunganya majemuk bentuk payung terdiri dari 4-6 bunga di ketiak daun atau di ruas batang, tangkai pendek, kelopak bentuk kerucut terbalik, panjang kurang lebih 3 mm bergigi empat, benang sari panjang 2-3 mm, kepala putik bentuk tombol, tabung mahkota panjang 1-2 cm, taju mahkota melengkung ke dalam, dan berwarna merah. Buah berbentuk kerucut terbalik, panjang kurang lebih 8 mm, dan berwarna coklat. Biji berbentuk bulat kecil dan berwarna hitam. Akarnya menempel pada batang inang yang berfungsi sebagai penghisap dengan warna kuning kecoklatan (Keng, 1990).



Gambar 2.1 *S. ferruginea* (Jack.) Dans. (Sumber: Ameer *et al.*, 2015)

#### 2.1.4 Penelitian Terdahulu tentang *S. ferruginea*

Tiga senyawa flavonol telah berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat *S. ferruginea* yaitu kuersetin, kuersitrin, dan glikosida flavonol 4'-O-asetilkuersitrin (Lohézic-Le Dévéhat *et al.*, 2002a). Analisis pendahuluan KLT ekstrak metanol dan fraksi n-butanol ekstrak metanol *S. ferruginea* menunjukkan adanya terpenoid dan flavonoid, dan ketika dianalisis dengan spektroskopi UV dan FTIR



menunjukkan bahwa terpenoid sebagai senyawa fitokimia yang utama (Ameer, 2011). Penapisan fitokimia pada ekstrak etanol 96% *S. ferruginea* pada inang kopi mengandung flavonoid, glikosida, tanin, dan steroid/triterpenoid (Manurung, 2016).

*S. ferruginea* telah dilaporkan menunjukkan aktivitas antivirus dan sitotoksik. Aktivitas sitotoksik *S. ferruginea* secara signifikan menghambat sel glioma U251 dengan  $IC_{50}$  19  $\mu\text{g/mL}$  (Lohézic-Le Dévéhat, 2002b). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak air *S. ferruginea* menunjukkan kemampuan untuk menurunkan tekanan darah *in vivo* (Othman, 1988). Fraksi n-butanol dari ekstrak metanol daun *S. ferruginea* dapat menurunkan tekanan darah tikus dan menghambat KCl dan fenilefrin yang menginduksi kontraksi cincin aorta. (Ameer *et al.*, 2010). Penelitian Marvibaigi *et al.* (2014), menunjukkan bahwa ekstrak aseton daun, bunga, dan batang *S. ferruginea* mempunyai aktivitas antioksidan dan antibakteri yang baik terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Aktivitas antioksidan juga ditunjukkan pada *S. ferruginea* di inang kopi (Manurung, 2016) dan bunga terompet (Nganggu, 2016) dengan  $IC_{50}$  masing-masing 64,02  $\mu\text{g/ml}$  dan 60,44  $\mu\text{g/ml}$ . Selain sebagai antioksidan, *S. ferruginea* pada inang kopi menunjukkan aktivitas penurunan glukosa darah pada mencit jantan (Dillasamola *et al.*, 2015) dan aktivitas antiinflamasi terhadap kaki tikus yang diinduksi karagenan (Tampubolon, 2016).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, *S. ferruginea* dengan inang yang acak dan pada inang kopi serta bunga terompet menunjukkan aktivitas antioksidan, sehingga sangat besar kemungkinan *S. ferruginea* yang tumbuh pada inang apel manalagi memiliki aktivitas antioksidan pula. Hal ini diperkuat oleh aktivitas antioksidan yang juga ditunjukkan pada inangnya yaitu apel (Drogoudi *et al.*, 2007), karena bioaktivitas dari benalu dapat dipengaruhi oleh inang akibat sebagai semiparasit (Glatzel & Geils, 2009).

## 2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan atom, molekul, atau ion dengan elektron tidak berpasangan yang sangat tidak stabil dan aktif terhadap reaksi kimia dengan molekul lain. Radikal bebas berasal dari 3 elemen, yaitu oksigen, nitrogen, dan sulfur, sehingga menjadi *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS) dan *reactive sulfur species* (RSS). ROS yang termasuk radikal bebas, seperti anion superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), radikal hidroperoksil ( $HO_2^{\bullet}$ ), radikal hidroksil ( $^{\bullet}OH$ ), oksida nitrat (NO), dan spesies lainnya, seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), oksigen singlet ( $^1O_2$ ), asam hipoklorit (HOCl), dan peroksinitrit ( $ONOO^-$ ). RNS berasal dari NO oleh reaksi dengan  $O_2^{\bullet-}$ , dan membentuk  $ONOO^-$ . RSS terbentuk dengan sangat mudah oleh reaksi ROS dengan tiol (Lü *et al.*, 2010). Radikal hidroperoksil ( $HO_2^{\bullet}$ ) diuraikan pada pH 7 untuk membentuk anion superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ). Anion tersebut sangat reaktif dan dapat berinteraksi dengan sejumlah molekul untuk menghasilkan ROS secara langsung atau melalui enzim maupun katalis logam. Anion superoksida juga dapat didetoksifikasi menjadi hidrogen peroksida melalui reaksi dismutasi dengan enzim superoksida dismutase (SOD) (melalui reaksi Haber–Weiss) dan akhirnya menjadi air dengan enzim katalase. Jika hidrogen peroksida bereaksi dengan katalis besi seperti  $Fe^{2+}$ , reaksi Fenton dapat terjadi ( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$ ) membentuk radikal hidroksil ( $HO^{\bullet}$ ) (Flora, 2009). Sedangkan RNS, mekanisme pembentukan  $ONOO^-$  adalah:  $NO^{\bullet} + O_2^{\bullet-}$  (Squadrito & Pryor, 1998). Pada kondisi oksidatif, RSS berasal dari tiol membentuk disulfida yang dengan oksidasi selanjutnya dapat menghasilkan *disulfide-S-monoxide* atau *disulfide-S-dioxide* sebagai molekul intermediet. Sedangkan reaksi dengan tiol yang berkurang dapat menghasilkan asam sulfenat atau asam sulfinat (Giles *et al.*, 2001).

Secara internal, radikal bebas diproduksi sebagai bagian normal dari metabolisme di dalam mitokondria, melalui xanthin oksidase, peroksisom, proses inflamasi, fagositosis, jalur arakidonat, iskemia, dan aktivitas fisik. Faktor eksternal yang membantu mendukung produksi radikal bebas yaitu obat-obatan, ion logam, polusi, dan radiasi (Lobo *et al.*, 2010). Macam-macam senyawa yang

merupakan sumber radikal bebas yang berasal dari eksternal dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Sumber radikal bebas dari eksternal

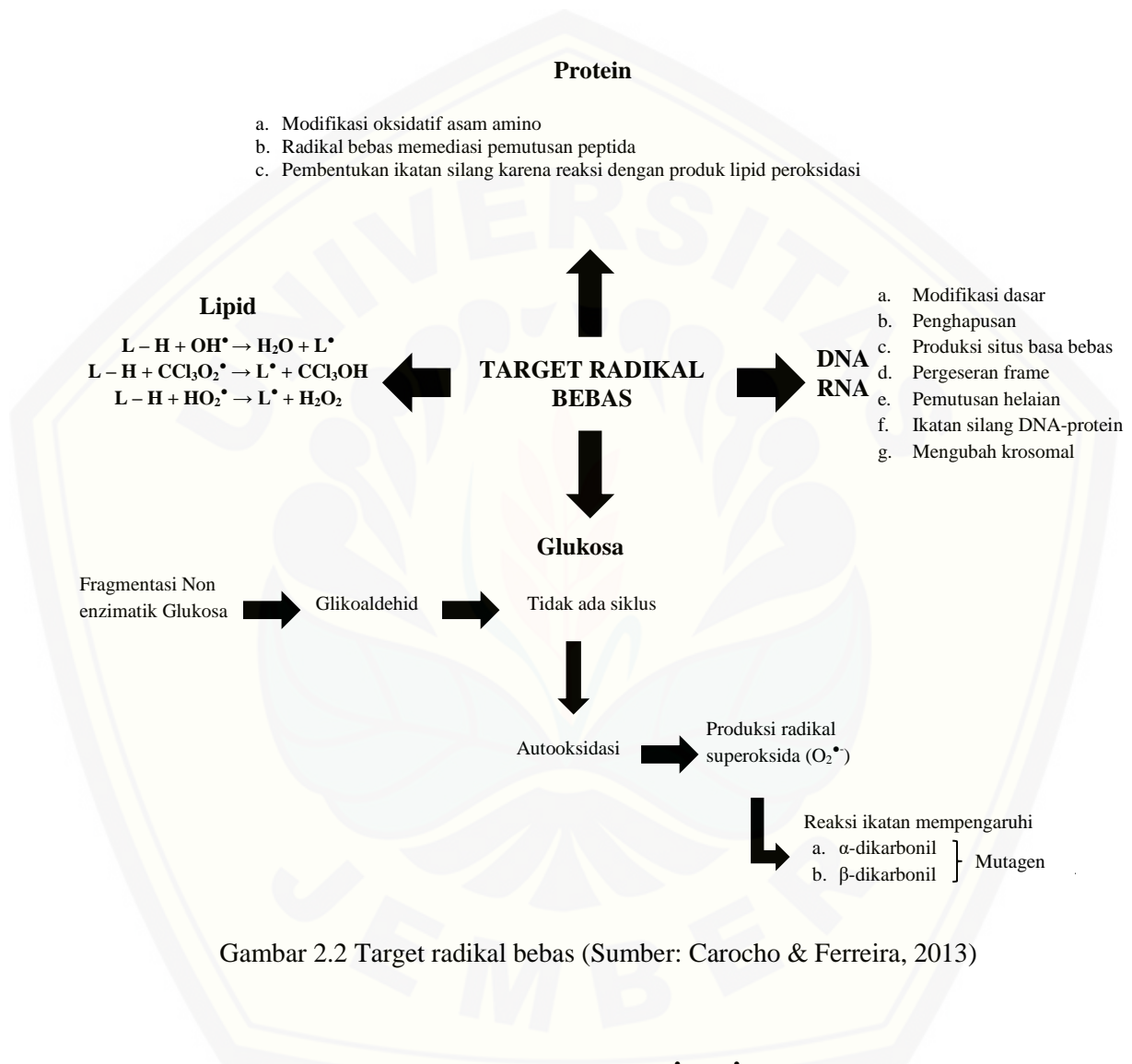
Kategori	Senyawa
Obat-obatan	Asetaminofen, clonazine, closapine, siprofloksasin, siklosporin, antidepresan trisiklik, nitrofuratoin, troglitazone, bleomisin, doksorubisin, aminotriazole, oksigen hiperbarik, 3,4-metilenedioksimetamfetamin (obat ilegal yang aditif)
Ion logam	Besi, tembaga, cadmium, nikel, kromium, merkuri
Polusi	Serat asbes, debu mineral, ozon, karbon monoksida, oksida nitrat, nitrogen dioksida, silika, beberapa pelarut, racun, hipoklorit, sulfur dioksida, pembakaran, <i>polychlorinated biphenyls</i> , <i>paraquat</i> , <i>diquat</i> , <i>plumbagin</i> , <i>juglone</i>
Radiasi	Cahaya UV, radiasi x-ray, radiasi gamma

Sumber: Abdollahi *et al.*, 2004

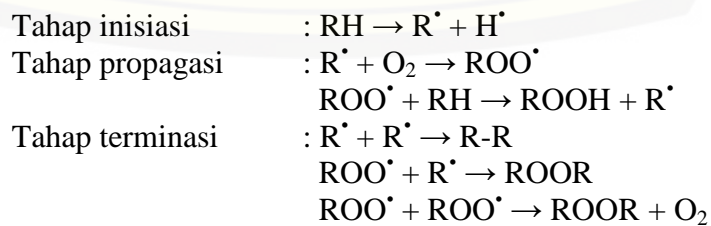
Target utama radikal bebas adalah protein, molekul DNA *deoxyribonucleic acid* (DNA), *ribonucleic acid* (RNA), glukosa, dan lemak dengan berbagai dampak dapat dilihat pada Gambar 2.2. Radikal bebas akan mengalami reaksi berantai dalam mekanismenya seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Pada tahap inisiasi, RH akan melepaskan atom hidrogen akibat adanya cahaya, oksigen, atau panas sehingga terjadi pembentukan radikal bebas ( $R\cdot$ ) yang sangat reaktif. Pada tahap propagasi, radikal ( $R\cdot$ ) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil ( $ROO\cdot$ ). Radikal peroksil selanjutnya akan menyerang RH dari suatu molekul menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidroperoksida 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).

Kondisi normal, sel melakukan perlindungan terhadap radikal bebas dengan menghasilkan suatu antioksidan. Jika terjadi overproduksi (reaksi berantai) ROS, sel akan mengalami konsekuensi berupa stres oksidatif (Wiernsperger, 2003). Hal ini ditunjukkan bahwa setiap hari sel manusia menjadi

target radikal hidroksil dan spesies lainnya dan rata-rata  $10^5$  kali merangsang stres oksidatif (Valko *et al.*, 2004). Stres oksidatif dapat berdampak pada patofisiologi berbagai penyakit degeneratif. Daftar lengkap penyakit yang dipengaruhi oleh stres oksidatif yang berperan pada patofisiologinya dapat dilihat pada Tabel 2.2.



Gambar 2.2 Target radikal bebas (Sumber: Carcho & Ferreira, 2013)



Gambar 2.3 Tahap-tahap reaksi berantai dari radikal bebas (Nugroho, 2007)



Tabel 2.2 Daftar penyakit yang dapat disebabkan oleh stres oksidatif

Kategori penyakit	Nama penyakit
Autoimun	arthritis rematoid, vaskulitis akibat kompleks imun, <i>inflammatory bowel diseases</i>
Mata	katarak, degenerasi makula terkait usia, retinopati, edema makula kistoid
Saluran pencernaan	hepatitis, pankreasitis, lambung, colitis
Ginjal	gagal ginjal, fibrosis interstitial ginjal, nefropati
Paru-paru	asma, sindrom distress pernafasan dewasa, fibrosis kistik, pneumonia, fibrosis paru idiopatik, penyakit paru obstruktif kronik
Neurodegeneratif	penyakit Parkinson, penyakit Huntington, sklerosis lateral amiotrofik, <i>progressive supranuclear palsy</i> , penyakit Alzheimer, sklerosis ganda, distrofi refleksi simpatik, demensia, <i>neuronal lipofuscinosis</i>
Sel darah merah	penyakit sel sabit, anemia, penuaan, aktivitas glukosa-6-fosfat dehidrogenase, hipoksia fetal/neonatal, thalasemia, infeksi malaria
Kulit	dermatitis kontak, dermatitis atopik, psoriasis, vitiligo
Pembuluh darah	aterosklerosis, infark miokard, strok, trauma iskemia dan reperfusi, iskemia otak, pendarahan subaraknoid
Lain-lain	trauma, kanker, terbakar, kondisi inflamasi, disfungsi multipel organ, toksisitas xenobiotik

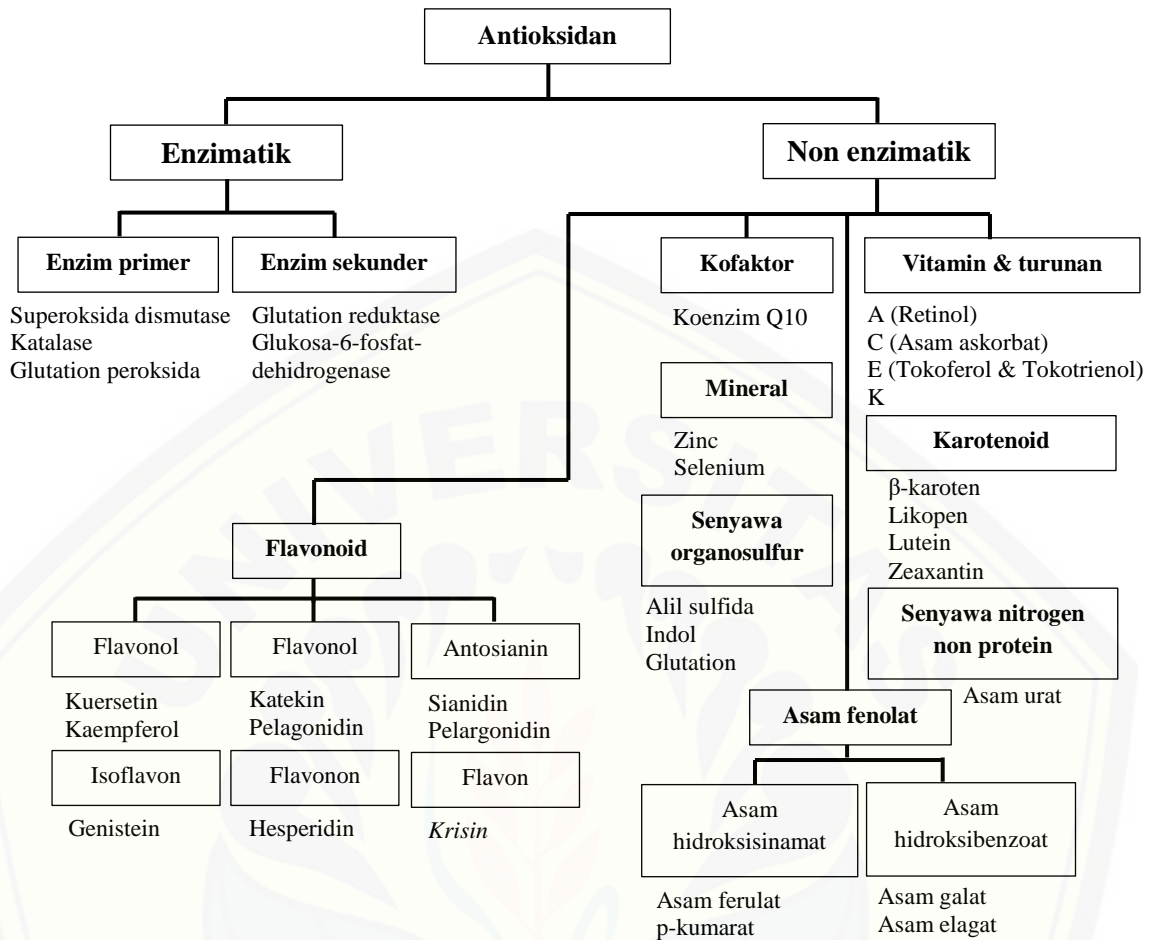
Sumber: Abdollahi *et al.*, 2004

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menghambat oksidasi molekul lain. Antioksidan memutus reaksi berantai radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya pada radikal bebas, tanpa menjadi radikal bebas baru. Antioksidan secara alami melindungi sel dari serangan ROS. Tubuh secara alami membentuk antioksidan enzim untuk mengontrol reaksi berantai tersebut. Antioksidan dalam pemutusan reaksi berantai dari radikal bebas dengan beberapa mekanisme, diantaranya (1) jenis peredaman yang memulai peroksidasi, (2) pengkelat ion logam, (3) peredaman  $O_2^{\bullet-}$  mencegah terbentuknya peroksida, (4) pemutusan reaksi berantai autoksidatif, dan/atau (5) pengurangan konsentrasi  $O_2$  (Nawar, 1996). Antioksidan diklasifikasikan menjadi antioksidan alami dan antioksidan buatan (Carocho & Ferreira, 2013).

a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami terbagi dalam 2 kelompok besar, yaitu antioksidan enzimatik dan antioksidan non-enzimatik. Klasifikasi antioksidan alami dapat dilihat pada Gambar 2.4. Antioksidan enzimatik dibagi menjadi perlindungan enzim primer dan sekunder. Perlindungan enzim primer terdiri dari 3 enzim, yaitu (a) glutathion peroksidase, yang mendonorkan 2 elektron untuk mengurangi peroksida dengan membentuk selenoles dan juga mengeliminasi peroksida sebagai substrat untuk reaksi Fenton; (b) katalase, yang mengkonversi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen molekular; (c) superoksida dismutase, yang mengkonversi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida sebagai substrat untuk katalase (Rahman, 2007). Sedangkan perlindungan enzim sekunder meliputi glutathion reduktase dan glukosa-6-fosfat dehidrogenase. Glutathion reduktase mengurangi glutathion dari bentuk oksidasinya ke bentuk reduksinya, sehingga didaur ulang untuk penetralan radikal bebas selanjutnya. Glukosa-6-fosfat dehidrogenase meregenerasi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) yang merupakan koenzim untuk anabolisme (Ratnam *et al.*, 2006).

Antioksidan non-enzimatik dibedakan menjadi antioksidan non-enzimatik dari dalam tubuh dan dari luar tubuh. Antioksidan non-enzimatik dari dalam tubuh terdiri dari vitamin A, koenzim Q10, senyawa nitrogen (asam urat), dan peptida (glutathion). Vitamin A atau retinol memiliki kemampuan bergabung dengan radikal peroksil sebelum tahap propagasi peroksidasi terhadap lipid (Palace *et al.*, 1999); koenzim Q10 mencegah dan menetralkan pembentukan radikal peroksil lipid (Turunen *et al.*, 2004); asam urat mencegah eritrosit lisis oleh peroksidasi dan meredam oksigen singlet dan radikal hidroksil (Kand'ar *et al.*, 2006); dan glutathion melindungi sel terhadap radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen atau elektron (Steenvoorden & Henegouwen, 1997). Antioksidan dari dalam tubuh tidak cukup untuk mengatasi radikal bebas, sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh yang berupa suplemen makanan (Pietta, 2000). Antioksidan non-enzimatik dari luar tubuh seperti vitamin C, vitamin E, vitamin K, flavonoid, asam fenolat, dan karotenoid (Carocho & Ferreira, 2013).



Gambar 2.4 Klasifikasi antioksidan alami (Sumber: Carocho & Ferreira, 2013)

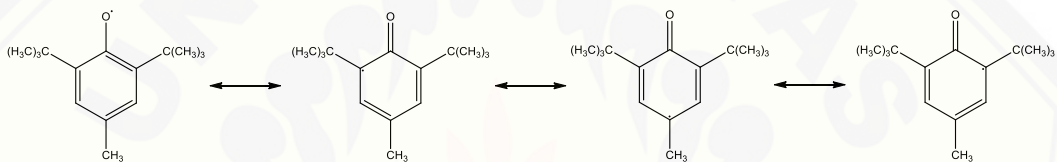
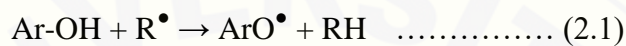
#### b. Antioksidan Buatan

Penggunaan antioksidan buatan biasanya untuk pencegahan oksidasi makanan, khususnya asam lemak. Antioksidan buatan diantaranya yaitu, *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) yang merupakan antioksidan kimia; TBHQ (*tert-Butylhydroquinone*) menstabilkan dan menjaga kesegaran, nilai gizi, rasa, dan warna dari produk makanan hewan; dan oktil galat aman digunakan sebagai zat tambahan makanan karena setelah dikonsumsi akan dihidrolisis menjadi asam galat dan oktanol (Charocho & Ferreira, 2013).

Pada umumnya senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan adalah senyawa fenol. Senyawa fenol akan menghambat proses oksidasi sebagai terminator radikal bebas (Dai & Mumper, 2010). Mekanisme penghambatan radikal bebas oleh senyawa fenol dapat dilihat pada Persamaan 2.1 (Gupta, 2015).



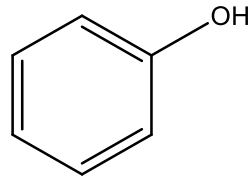
Radikal bebas dihambat oleh senyawa fenol dengan cara mendonorkan proton (atom hidrogen) ketika bereaksi dengan senyawa radikal seperti radikal superoksida, radikal peroksil, radikal alkoksil, dan radikal hidroksil sehingga proses oksidasi dihambat dan terbentuk *aryloxy radical* yang stabil. Terbentuknya radikal stabil ini dikarenakan elektron bebas yang terdapat pada radikal distabilkan oleh delokalisasi elektron dengan adanya resonansi pada cincin aromatik (Tursiman *et al.*, 2012). Stabilisasi resonansi pada *aryloxy radical* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Stabilisasi resonansi pada *aryloxy radical* (Sumber: Shahidi & Ambigaipalan, 2015)

### 2.3 Tinjauan Umum Senyawa Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang berikatan dengan cincin aromatik. Sedangkan, senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil yang berikatan dengan satu atau lebih cincin aromatik disebut polifenol (Vermerris & Nicholson, 2006). Struktur kimia dari senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.6. Senyawa fenol terdistribusi luas dalam tumbuhan dan metabolit sekunder paling berlimpah dalam tumbuhan, dengan lebih dari 8000 struktur fenol telah diketahui, dari molekul sederhana seperti asam fenol sampai senyawa yang terpolimerasi tinggi seperti tanin (Dai & Mumper, 2010). Salah satu klasifikasi senyawa fenol yaitu didasarkan pada kerangka rantai karbonnya yang disajikan dalam Tabel 2.3.



Gambar 2.6 Struktur fenol (Sumber: ChemDraw)

Tabel 2.3 Klasifikasi fenol berdasarkan rantai karbonnya

Kelas	Kerangka Dasar
Fenol sederhana	C <sub>6</sub>
Benzoquinon	C <sub>6</sub>
Asam fenolat	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Asetofenon	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Asam fenilasetat	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Asam hidroksisinamat	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Fenilpropana	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kumarin, Isokumarin	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kromon	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naftokuinon	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Xanton	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Stilben	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Antrakuinon	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoid	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignan dan Neolignan	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Lignin	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>

Sumber: Giada, 2013

Senyawa fenol dalam tumbuhan secara umum digunakan untuk pertahanan terhadap radiasi ultraviolet atau serangan dari patogen, parasit, dan predator, serta berperan dalam warna tumbuhan (Kabera *et al.*, 2014). Senyawa fenol berada tersebar di seluruh organ tumbuhan. Fenol juga diketahui menunjukkan bioaktivitas yang beragam yang bermanfaat pada kesehatan manusia, seperti mengurangi resiko kanker (Yang *et al.*, 2001), penyakit hati, dan diabetes, dapat menghambat agregasi platelet plasma (Oak *et al.*, 2005), aktivitas siklooksigenase (COX), dan pelepasan histamin sebagai aktivitas antibakteri, antiviral, anti inflamasi, dan anti alergi (Yao *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan oleh Lohézic-Le Dévéhat *et al.* (2002a), fraksi etil asetat *S. ferruginea* mengandung 3 senyawa flavonol yang

tergolong senyawa fenol yaitu kuersetin, kuersitrin, dan glikosida flavonol 4'-O-asetilkuersitrin. Hal yang sama juga dilaporkan bahwa penapisan fitokimia pada ekstrak etanol 96% *S. ferruginea* pada inang kopi mengandung flavonoid dan tanin yang merupakan senyawa fenol (Manurung, 2016). Berdasarkan penelitian tersebut, *S. ferruginea* yang tumbuh pada inang apel manalagi sangat dimungkinkan juga memiliki kandungan senyawa fenol.

Senyawa fenol dari tumbuhan dapat ditarik dengan cara ekstraksi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana, paling banyak digunakan, peralatannya mudah ditemukan dan pengerjaannya sederhana (Anonim, 1986). Metode ini akan menarik senyawa fenol menggunakan suatu pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama. Pelarut etanol merupakan pelarut polar yang umumnya digunakan dalam ekstraksi senyawa fenol (Shi *et al.*, 2005).

Di dalam ekstrak kental suatu tumbuhan, tidak hanya senyawa fenol yang terdapat pada ekstrak tersebut, namun ada sejumlah karbohidrat dan/atau lipid, sehingga agar didapat senyawa fenol yang spesifik maka perlu dilakukan suatu fraksinasi yang dapat menggunakan metode partisi cair-cair (Dai & Mumper, 2010). Partisi cair-cair merupakan proses pemisahan yang didasari oleh perbedaan distribusi komponen yang menjadi terpisah antara 2 fase cair (Hanson, 1971). Fraksinasi senyawa fenol dapat menggunakan pelarut berturut-turut. Pada penelitian ini digunakan pelarut n-heksana dan etil asetat sehingga akan diperoleh fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Pelarut n-heksana merupakan pelarut nonpolar. Pelarut n-heksana akan menghilangkan senyawa nonpolar seperti lipid, karotenoid, dan klorofil dari ekstrak kental. Kemudian, dengan pelarut semipolar yang biasa digunakan adalah etil asetat. Pelarut etil asetat akan melarutkan senyawa fenol yang non-polimer seperti katekin, antosianin, dan flavonol (Dai & Mumper, 2010).

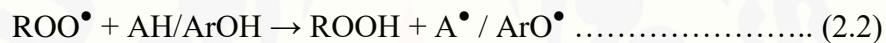
#### **2.4 Tinjauan Umum Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan *in vitro***

Berdasarkan reaksi kimia yang terjadi, metode pengujian aktivitas antioksidan *in vitro* dibagi menjadi 2, yaitu berdasarkan reaksi *hydrogen atom transfer* (HAT) dan *single electron transfer* (ET). Pengujian berdasar reaksi ET

merupakan salah satu reaksi redoks dengan oksidan sebagai indikator dari titik akhir reaksi. Sedangkan pengujian berdasarkan reaksi HAT kebanyakan memonitoring kompetisi reaksi kinetik dan kuantifikasi berasal dari kurva kinetik (Huang *et al.*, 2005).

#### 2.4.1 Pengujian Berdasarkan Reaksi HAT

Pengujian berdasarkan reaksi HAT yaitu mengukur kemampuan antioksidan untuk meredam radikal bebas (umumnya radikal peroksil) dengan mendonorkan atom hidrogen. Mekanisme aksi antioksidan dengan reaksi HAT yaitu atom hidrogen (H) dari fenol (Ar-OH) didonorkan pada radikal peroksil (ROO<sup>•</sup>), dengan reaksi lengkap dapat dilihat pada Persamaan 2.2 (Gupta, 2015).



Bentuk *aryloxy radical* (ArO<sup>•</sup>) dari reaksi antioksidan fenol dengan radikal peroksil distabilisasi oleh resonansi. Antioksidan fenol yang efektif dibutuhkan untuk bereaksi lebih cepat daripada biomolekul dengan radikal bebas untuk melindungi akhir dari oksidasi. Sebagai contoh metode pengujian yang berdasarkan HAT yaitu, metode *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), metode *total radical trapping antioxidant parameter* (TRAP), metode *β-carotene bleaching*, dan metode *crocin bleaching* (Gupta, 2015).

#### 2.4.2 Pengujian Berdasarkan Reaksi ET

Mekanisme ET dari aksi antioksidan dapat dilihat pada Persamaan 2.3, 2.4, dan 2.5.



Reaksi yang terjadi pada mekanisme ET lebih lambat daripada mekanisme HAT dan reaksi ET dipengaruhi oleh pelarut dan pH. *Aryloxy radical* (ArO<sup>•</sup>)

yang merupakan hasil oksidasi akan distabilkan menjadi kuinon ( $Ar=O$ ). Banyak pengujian berdasarkan reaksi ET, aksi antioksidan distimulasi dengan senyawa yang mempunyai kemampuan redoks yang cocok, seperti antioksidan direaksikan dengan senyawa berfluoresensi atau berwarna (agen pengoksidasi) yang termasuk radikal peroksil. Pengukuran dengan spektrofotometri kapasitas antioksidan dengan reduksi oksidan dapat dilihat dari perubahan warna ketika berkurang (Gupta, 2015).

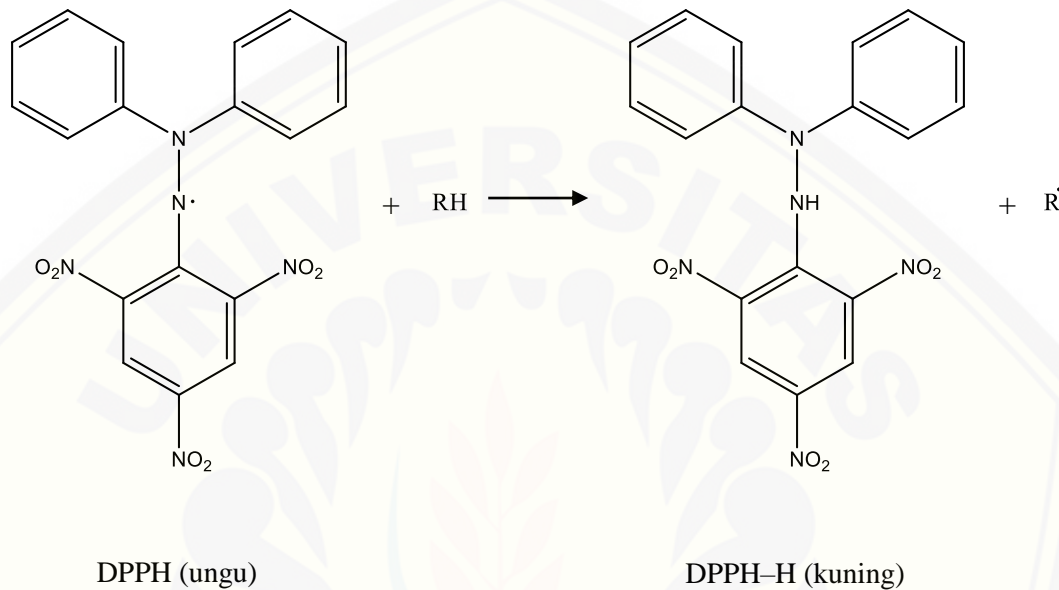
Tingkat perubahan warna (meningkat atau menurunnya absorbansi) berhubungan dengan konsentrasi antioksidan dalam sampel. *Trolox equivalent antioxidant capacity* (ABTS/TEAC) dan DPPH merupakan pengujian penghilangan warna, sedangkan kadar fenol total, *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) dan *cupric reducing antioxidant capacity* (CUPRAC) menggunakan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang tertentu akibat antioksidan bereaksi dengan reagen kromogenik (Apak *et al.*, 2007).

Pengujian aktivitas antioksidan *in vitro* yang sangat populer adalah metode DPPH. Hal ini dikarenakan DPPH merupakan metode yang sangat cocok untuk penapisan 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). Metode ini tidak diperlukan substrat sehingga memiliki keuntungan, yaitu lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat dibanding metode lain (Richa, 2009).

*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH) merupakan radikal bebas stabil karena memiliki satu elektron yang didelokalisasi dalam molekul itu sendiri, sehingga molekul tidak reaktif seperti radikal bebas lain. Delokalisasi ini akan memberikan warna ungu gelap pada DPPH dalam larutan etanol ataupun metanol. Pelarut metanol digunakan karena 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, karena pelarut tersebut tidak mengganggu reaksi (Guo *et al.*, 2010). Metode DPPH tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam



sampel. Warna ungu dari DPPH akan berubah menjadi kuning saat radikal DPPH tereduksi akibat berikatan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H (*difenil pikril hidrazin*) (Molyneux, 2004). Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Mekanisme penghambatan radikal DPPH (Alam *et al.*, 2013)

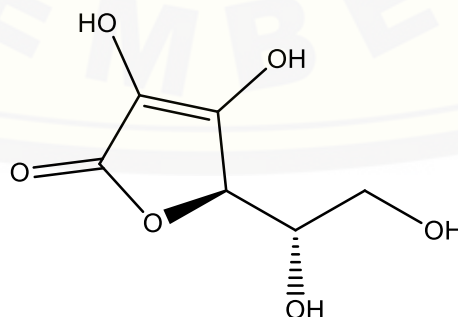
Perubahan warna ungu menjadi kuning akan terjadi secara bertahap sesuai besar konsentrasi antioksidan. Perubahan warna yang terjadi dapat diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 515-520 nm pada pelarut organik. Pengukuran menggunakan spektrofotometer vis pada penambahan konsentrasi antioksidan akan memberikan serapan yang semakin menurun akibat reaksi antara radikal DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh antioksidan (Molyneux, 2004). Semakin besar konsentrasi antioksidan maka persen penghambatan terhadap radikal DPPH akan meningkat (Dehpour *et al.*, 2009). Besar presentase peredaman DPPH dapat ditentukan menggunakan Persamaan 2.6.

$$\text{Peredaman DPPH (\%)} = 1 - \frac{\text{Abs}_y}{\text{Abs}_x} \times 100\% \dots\dots\dots (2.6)$$

Besarnya aktivitas antioksidan dapat 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  $IC_{50}$  maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi.  $IC_{50}$  dihitung dengan menggunakan Persamaan 2.7, yang terlebih dahulu dibuat persamaan regresi linier,  $y = bx+a$ , dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan inhibisi DPPH sebagai sumbu y (Molyneux, 2004).

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b} \dots\dots\dots (2.7)$$

Pengujian aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak digunakan juga suatu pembanding sebagai kontrol positif. Pembanding yang sering digunakan adalah asam askorbat (vitamin C). 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 (Ortega, 2006). Asam askorbat 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 asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Asam askorbat (Sumber: ChemDraw)

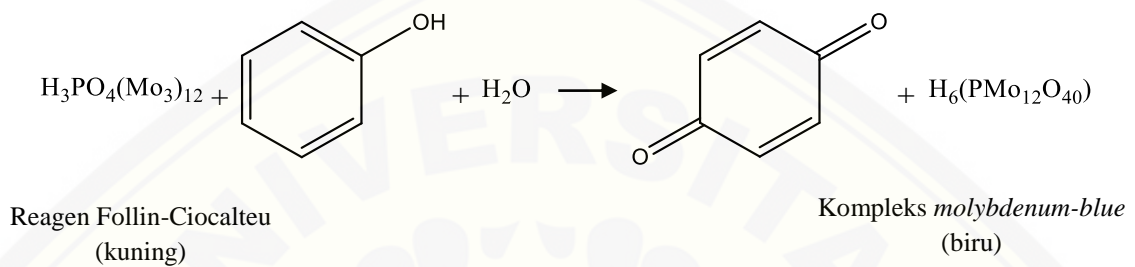


## 2.5 Tinjauan Umum Metode Penetapan Kadar Fenol Total

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk penetapan kadar fenol total, seperti metode Folin-Denis, metode Folin-Ciocalteu, titrasi permanganat, kolorimetri dengan garam besi, dan absorpsi ultraviolet. Oksidasi dengan natrium permanganat lebih sulit untuk standardisasi analisis yang berbeda dan banyak pengganggu seperti gula. Kolorimetri dengan garam besi terdapat masalah, pada penetapan kadar fenol total, monofenol tidak dapat bereaksi dan pada kondisi yang sama vicinal difenol dan vicinal trifenol memberikan perbedaan warna. Sedangkan absorpsi ultraviolet sulit untuk mengaplikasikannya karena pengganggu dari senyawa lain yang memiliki serapan pada panjang gelombang tertentu dan fenol alami masing-masing berbeda sangat besar pada panjang gelombang absorbansi maksimum dan absorbansi molarnya. Metode Folin-Ciocalteu merupakan metode yang disukai dibandingkan metode lainnya (Singleton *et al.*, 1974). Penetapan kadar fenol total dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu akan bereaksi reduksi-oksidasi dengan senyawa fenol. Reagen Folin-Ciocalteu adalah campuran dari asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat (asam heteropoli). Ketika senyawa fenolik dalam ekstrak sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning akan terjadi pembentukan senyawa kompleks yang berwarna biru. Senyawa yang berwarna biru tersebut yang dapat diukur dengan cahaya tampak pada spektrofotometri UV-Vis. Senyawa molibdat dan tungstat dalam Folin-Ciocalteu akan direduksi oleh senyawa fenol membentuk larutan kromofor yang berwarna biru (Tursiman *et al.*, 2012), dimana penyerapan maksimum gugus kromofor tergantung pada larutan alkali dan konsentrasi senyawa fenol (Blainski, 2013). Semakin besar konsentrasi senyawa fenol, maka semakin banyak ion fenolat yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton *et al.*, 1974). Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.9.

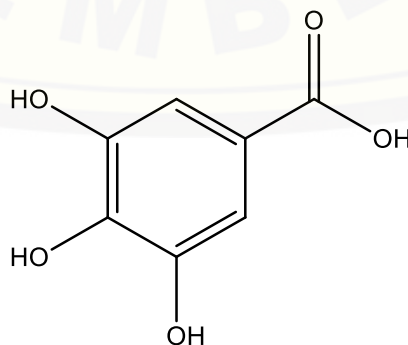
Penetapan kadar fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu dilakukan penambahan natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) untuk membentuk suasana basa sehingga terjadi reaksi reduksi Folin oleh gugus hidroksil dari fenol dalam sampel (Nely,

2007). Senyawa fenol akan bereaksi dengan natrium karbonat menghasilkan ion fenolat, kemudian ion fenolat mereduksi asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat membentuk kompleks *molibdenum-blue*. Metode ini memiliki kelebihan diantaranya relatif cepat, ekonomis, sederhana (Khoddami *et al.*, 2013), dan penampakan warnanya lebih baik (Rita, 2006).



Gambar 2.9 Reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol (Sumber: Tursiman, 2012)

Pada penetapan kadar fenol total biasanya digunakan pembanding asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat). Asam galat termasuk dalam kelompok asam fenolat turunan asam benzoat dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Lee *et al.*, 2004). Struktur dari asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.10. Kadar fenol total yang didapat akan ekuivalen dengan asam galat yaitu, miligram asam galat ekuivalen (GAE) per gram ekstrak. Penggunaan asam galat memiliki beberapa keuntungan yaitu, murah, larut air, mudah rekristalisasi dalam air, tersedia kering, dan stabil dalam bentuk kering (Singleton *et al.*, 1974).



Gambar 2.10 Struktur kimia asam galat (Sumber: ChemDraw)

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan dilakukan berupa penelitian *true experimental laboratories* yang merupakan penelitian yang dilakukan di laboratorium.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Juli 2017 bertempat di Laboratorium Analisis Instrumen dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.3 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun benalu (*S. ferruginea*) yang diambil secara acak dari benalu yang tumbuh pada inang apel manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.). Benalu dan apel manalagi telah berbunga penuh yang tumbuh di kebun warga Desa Bulukerto Kecamatan Bumiaji, Kota Batu. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Februari 2017. Selanjutnya, dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) dan kadar fenol total ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

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

## 3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Daun yang digunakan adalah daun yang diambil secara acak dari *S. ferruginea* yang tumbuh pada inang apel manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill.). Benalu dan apel manalagi telah berbunga penuh yang tumbuh di kebun warga Desa Bulukerto Kecamatan Bumiaji, Kota Batu. Daun yang diambil tidak dibedakan antara daun muda dan tua. Pengambilan dilakukan pada bulan Februari 2017.
2. Ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia yang diserbuk kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%.
3. Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air adalah fraksi yang diperoleh dari partisi cair-cair ekstrak etanol *S. ferruginea* yang telah disuspensikan pada etanol-air (1:1 v/v) menggunakan pelarut berturut-turut n-heksana dan etil asetat.
4. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam warna DPPH yang dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ .

## 3.6 Alat dan Bahan

### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), seperangkat alat gelas, corong *Buchner*, *hot plate*, neraca digital, neraca analitik, *vacuum rotary evaporator*, *grinder*, ayakan diameter 2 mm, oven, mikropipet, *stopwatch*, *ultrasonic cleaner*.

### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun *S. ferruginea* pada apel manalagi, kertas saring, kain hitam, aluminium foil, standar asam galat (Sigma-Aldrich), difenilpikrilhidrazil/DPPH (Sigma-Aldrich), vitamin C (PT. Brataco), reagen Folin-Ciocalteu (Merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> teknis, metanol teknis, etanol 96% teknis, n-heksana teknis, etil asetat teknis, dan akuades.

### 3.7 Ekstraksi dan Fraksinasi

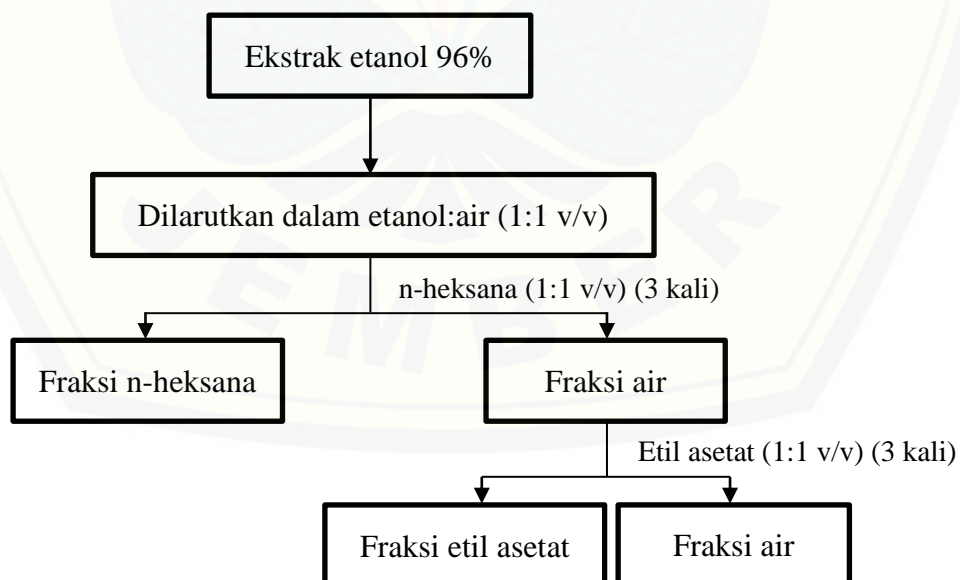
Daun *S. ferruginea* masing-masing diekstraksi dengan metode yang mengacu pada penelitian Nganggu (2016) dengan beberapa modifikasi. Pertama-tama sortasi basah *S. ferruginea* untuk memisahkan daun yang akan digunakan. Kemudian daun dicuci menggunakan air mengalir, dan dipotong agar mempercepat proses pengeringan. Setelah itu, dikering-anginkan di dalam ruangan selama 5 hari, dilanjutkan dengan pengeringan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam hingga kering. Daun yang kering ditandai dengan mudah hancur jika diremas. Selanjutnya, daun diserbuk menggunakan *grinder* dengan diameter ayakan 2 mm. Serbuk daun disimpan dalam wadah tertutup sampai dilakukan proses ekstraksi.

Lima puluh gram serbuk daun *S. ferruginea* dimasukkan dalam maserator dan dilakukan maserasi dengan pelarut penyari etanol 96% sebanyak 500 ml selama 3 hari. Maserat disaring menggunakan kertas saring melalui corong *Buchner* sehingga didapat filtrat. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 500 ml selama 1 hari dan dilakukan penyaringan kembali. Semua filtrat disatukan dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dikeringkan dalam oven sehingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen. Perhitungan rendemen ekstrak menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$



Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi untuk mendapatkan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan cara partisi cair-cair yang mengacu pada penelitian Tarmadi *et al.* (2012). Ekstrak etanol sebanyak 6 g dilarutkan dalam etanol 96% sampai larut. Kemudian ditambah dengan air sebanyak 1:1 v/v. Setelah itu, ditambah dengan n-heksana sebanyak 1:1 v/v dan dimasukkan dalam corong pisah, kemudian dilakukan pengocokan berulang selama 2-3 menit. Campuran tersebut didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan, yaitu fraksi air dan fraksi n-heksana. Fraksi n-heksana diambil dan fraksi air ditambah n-heksana kembali sampai 3 kali pengulangan. Masing-masing fraksi n-heksana dikumpulkan menjadi satu dan fraksi air yang didapat ditambah dengan etil asetat sebanyak 1:1 v/v dan dilakukan pengocokan berulang dalam corong pisah. Campuran tersebut didiamkan sehingga terbentuk 2 lapisan, yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat diambil dan fraksi air ditambah n-heksana kembali sampai 3 kali pengulangan. Masing-masing fraksi etil asetat dikumpulkan dan fraksi air ditampung. Fraksi n-heksana, etil asetat, dan air masing-masing dipekatkan untuk digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total. Alur fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema alur fraksinasi daun *S. ferruginea*

### 3.8 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun *S. ferruginea* diukur atas kemampuan meredam DPPH yang stabil yang mengacu dari penelitian dari Molyneux (2004) dengan beberapa modifikasi.

#### 3.8.1 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* masing-masing ditimbang sejumlah tertentu kemudian dilarutkan dengan metanol sampai tepat tanda dalam labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi larutan sampel 2.000 dan 1.000 µg/ml. Dari larutan 2.000 dan 1.000 µg/ml dibuat larutan uji dengan pengenceran sehingga diperoleh beberapa seri konsentrasi larutan uji akhir.

#### 3.8.2 Pembuatan Larutan Pembanding

Ditimbang sejumlah tertentu vitamin C dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 2.000 dan 1.000 µg/ml. Lalu larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga diperoleh beberapa seri konsentrasi larutan vitamin C akhir.

#### 3.8.3 Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dengan metanol sampai tepat tanda di dalam labu ukur 25,00 ml sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM.

#### 3.8.4 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Sebanyak 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM dipipet dan ditambahkan dengan 300 µl metanol (Krishnaiah *et al.*, 2011). Kemudian didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Lalu serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 400-600 nm.

### 3.8.5 Penentuan Waktu Inkubasi

Sebanyak 300 µl larutan uji dan pembanding masing-masing direaksikan dengan 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM 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

#### a) Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH (kontrol)

Sebanyak 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM ditambah dengan 300 µl metanol (tiga kali replikasi) dan didiamkan di tempat gelap pada suhu ruang selama waktu inkubasi yang telah ditetapkan. Campuran dikocok sampai homogen dan didiamkan di tempat gelap pada suhu ruang selama waktu inkubasi yang telah ditetapkan. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

#### b) Pengukuran Absorbansi Larutan Uji dan Pembanding

Sebanyak 300 µl masing-masing larutan uji dan pembanding ditambahkan 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen dan didiamkan di tempat gelap pada suhu ruang selama waktu inkubasi yang telah ditetapkan. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning terjadi selama waktu reaksi. Semua sampel diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Masing-masing seri konsentrasi larutan uji dan pembanding dilakukan tiga kali replikasi.

### 3.8.7 Perhitungan

Perhitungan aktivitas antioksidan ditentukan dari persen peredaman warna ungu dari larutan DPPH pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan Persamaan 3.2.

$$\text{Peredaman DPPH} = \left(1 - \frac{A_{\text{larutan uji}}}{A_{\text{Larutan DPPH}}}\right) \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya (Ulfa & Hidayat, 2007). Data yang diperoleh dibuat kurva baku antara konsentrasi larutan uji (sebagai absis) dengan % peredaman DPPH (sebagai ordinat), kemudian dibuat persamaan regresinya menggunakan persamaan 3.3.

$$y = bx + a \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan : y = peredaman DPPH; x = konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) larutan uji

Kemudian dimasukkan nilai  $y = 50$  sehingga diperoleh  $\text{IC}_{50}$  dari larutan uji yang merupakan konsentrasi efektif untuk meredam aktivitas radikal bebas larutan DPPH sebesar 50%. Masing-masing larutan uji dan larutan perbandingan dibuat 3 kali replikasi untuk mendapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  rata-rata  $\pm$  SD.

### 3.9 Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar fenol total ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun *S. ferruginea* menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang berdasarkan penelitian Alizadeh *et al.* (2010) dengan beberapa modifikasi.

#### 3.9.1 Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan induk asam galat dibuat dengan konsentrasi  $500 \mu\text{g/ml}$  dengan menimbang asam galat 25 mg yang dilarutkan dalam 10,000 ml metanol. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol sampai tepat tanda sehingga didapat konsentrasi larutan standar asam galat pada rentang  $50\text{-}150 \mu\text{g/ml}$ .

### 3.9.2 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol, fraksi n-heksana fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *S. ferruginea* masing-masing ditimbang sebanyak 25,0 mg ke dalam labu ukur 25,00 ml, lalu ditambahkan metanol sampai batas tanda sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 1.000 µg/ml. Larutan induk tersebut diencerkan sampai konsentrasi tertentu. Masing-masing dilakukan tiga kali replikasi.

### 3.9.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan asam galat diambil sebanyak 150 µl, kemudian ditambahkan dengan 750 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan air (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan selanjutnya ditambahkan dengan 600 µl 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Diamkan di tempat gelap selama 30 menit, absorbansinya dibaca pada λ maksimum dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 600-800 nm.

### 3.9.4 Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji konsentrasi 1.000 µg/ml dan larutan standar (asam galat) konsentrasi 75 µg/ml masing-masing sebanyak 150 µl ditambah dengan 750 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan akuades (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian, ditambahkan 600 µl 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. 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 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Larutan standar asam galat masing-masing diambil sebanyak 150 µl dan ditambah dengan 750 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan akuades (1:10 v/v) serta didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian ditambahkan 600 µl 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi sesuai waktu inkubasi yang telah dioptimasi di tempat



gelap. Setelah itu, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer visibel terhadap blanko yang terdiri atas metanol, reagen Folin-Ciocalteu dan larutan 7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

#### 3.9.6 Penetapan Kadar Fenol Total

Diambil 150  $\mu\text{l}$  larutan uji, lalu masing-masing ditambahkan 750  $\mu\text{l}$  reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan akuades (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian ditambahkan 600  $\mu\text{l}$  7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi sesuai waktu inkubasi yang telah dioptimasi di tempat gelap. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer visibel sesuai panjang gelombang serapan maksimum.

#### 3.9.7 Perhitungan

Kadar fenol total dinyatakan sebagai milligram asam galat ekuivalen per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak) yang didapat dari memasukkan nilai absorbansi masing-masing konsentrasi larutan uji ke dalam persamaan regresi linier larutan standar asam galat. Masing-masing larutan uji dibuat 3 kali replikasi untuk mendapatkan kadar fenol total rata-rata  $\pm$  SD.

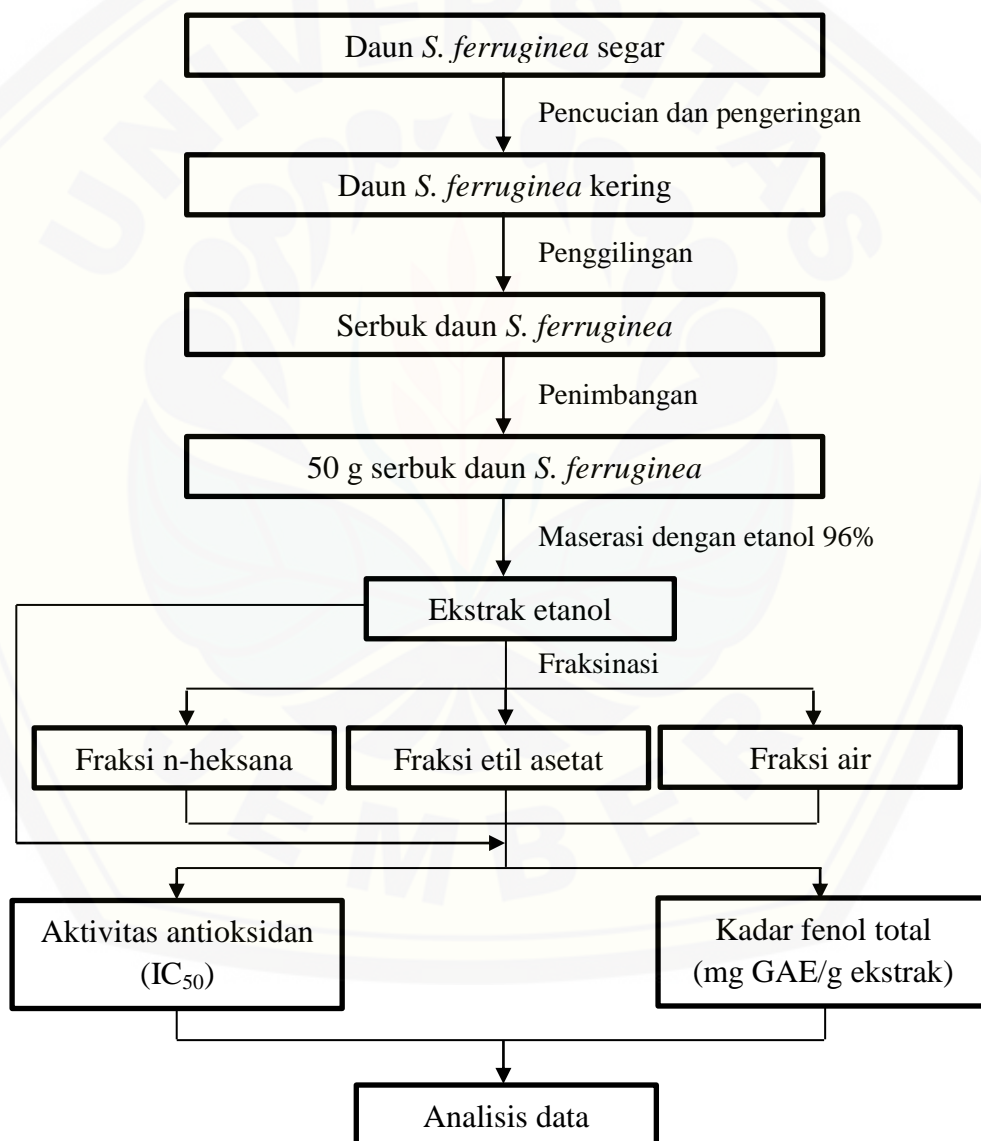
### 3.10 Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antioksidan dan kadar fenol total masing-masing ekstrak dan fraksi dianalisis secara statistik. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan *one way ANOVA*. Jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Jika data setelah ditransformasi telah normal dan homogen, dapat dilanjutkan dengan *one way ANOVA*. Apabila data masih tidak normal atau tidak homogen, dilakukan uji statistik alternatif dengan *Kruskal-Wallis*. Jika data yang diperoleh dari *ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* telah signifikan, maka dilanjutkan analisis statistik dengan *post hoc* dengan *LSD* untuk *ANOVA* dan *Man-Whitney* untuk *Kruskal-Wallis*.

Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai  $p < 0,01$  dengan taraf kepercayaan 99%. Korelasi antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dilakukan dengan *Pearson* dengan dianggap berkorelasi signifikan apabila nilai  $p < 0,05$ .

### 3.11 Kerangka Pemecahan Masalah

Alur penelitian dapat dilihat dibawah ini.



Gambar 3.2 Skema kerangka pemecahan masalah

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah fraksi etil asetat, ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana. Hasil pengujian masing-masing sampel memiliki perbedaan yang signifikan satu dengan yang lain.
2. Kadar fenol total dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah fraksi etil asetat, ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana. Hasil pengujian masing-masing sampel memiliki perbedaan yang signifikan satu dengan yang lain.
3. Tidak terdapat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kadar fenol total pada daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.

### 5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan pada bagian lain *S. ferruginea* pada apel manalagi untuk mengetahui efektivitas antioksidan dari beberapa bagian tanaman.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengujian aktivitas lain yang berkaitan dengan penyakit degeneratif serta skrining fitokimia, identifikasi, dan isolasi senyawa yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi, M., A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar, & A. Rezaie. 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit.* 10(6): 141-147.
- Alam, Md. N., N. J. Bristi, & Md. Rafiquzzaman. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 21: 143–152.
- Alizadeh, A., M. Khoshkhui, K. Javidnia, O. Firuzi, E. Tafazoli, & A. Khalighi. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(1): 33-40.
- Ameer, O. Z., I. M. Salman, K. J. Quek, & M. Z. Asmawi. 2015. *Loranthus ferrugineus*: a mistletoe from traditional uses to laboratory bench. *Journal of Pharmacopuncture.* 18(1): 007-018.
- Ameer, O. Z. 2011. Characterization of *Loranthus ferrugineus* cardiovascular activities. *An Ethnopharmacological and Phytochemical Investigation.* LAP LAMBERT Academic Publishing: 288p
- Ameer, O. Z., I. M. Salman, M. J. Siddiqui, M. F. Yam, R. N. Sriramaneni, & A. Sadikun. 2010. Cardiovascular activity of the n-butanol fraction of the methanol extract of *Loranthus ferrugineus* roxb. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 43(2): 18694.
- Anonim, 1986. *Sediaan Galenik.* Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2003. *Flora of China.* 5: 227-231.
- Antolovich, M., P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, & K. Robards. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.* 127: 183–198.
- Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Ozyürek, S. E. Celik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker, & D. Ozyurt. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules.* 12: 1496-547.
- Backer, C. A. & R. C. Bakhuizen van den Brink jr. 1965. *Flora of Java vol. II.* Groningen: Noordhoff.

- Bajaj, S. & Khan, A. 2012. Antioxidants and diabetes. *Indian J of Endocrinol and Metab.* 16(2):267-271.
- Behera, S., S. Ghanty, F. Ahmad, S. Santra, S. Banerjee. 2012. UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. *Journal Analytical Bioanalytical Techniques.* 3(6): 243-248.
- Blainski, A., G. Lopes, & J. de Mello. 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules.* 18: 6852-6865.
- Cahyani, Y. N. 2015. Perbandingan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabica (*Coffea arabica*). *Skripsi.* Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Carocho, M. & I. C. F. R. Ferreira. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology.* 51: 15–25.
- Cronquist, A. 1982. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* New York: Columbia University Press.
- Dai, J. & R. J. Mumper. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15(1): 7313–7352.
- Dehpour, A. A., M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel, dan N. S. Mohammad. 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y. Aceites.* 60(4): 405-412.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta: Depkes RI.
- Dillasamola, D., S. Dharma, & N. Q. Al Khaira. 2015. Perbandingan pengaruh pemberian ekstrak etanol *deffating* dan ekstrak etanol daun benalu kopi *Scurrula ferruginea* (Jack.) Danser terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan. *Scientia.* 5(2): 108–113.
- Drogoudi, P.D., Z. Michailidis, & G. Pantelidis. 2007. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Sci. Engl.* 115: 149-153.



- Flora, S.J.S. 2009. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and mettaloid exposure. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2: 191–206.
- Giada, M. L. R. 2013. Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. *Intech.* 87-107.
- Giles, G.I., K. M. Tasker, & C. Jacob. 2001. Hypothesis: the role of reactive sulfur species in oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 31: 1279–1283.
- Glatzel, G. & B.W. Geils. Mistletoe ecophysiology: host–parasite interactions. *NRC Research Press.* 87: 10-15.
- Guo, J. T., H. L. Lee, S. H. Chiang, F. I. Lin, & C. Y. Chang. 2001. Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *J. Food Drug Anal.* 9(2):96-101.
- Gupta, D. 2015. Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *IJPSR.* 6(2): 546-566.
- Gutteridge, J.M.C. & B. Halliwell. 2010. Antioxidants: molecules, medicines and myths. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 393: 561-564.
- Halliwell B. 1994. Free radical, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet.* 344: 721-724
- Hanson, C. 1971. *Recent Advances in Liquid-Liquid Extraction.* New York: Pergamon Press.
- Huang, D., B. Ou, & R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53(6):1841-1856.
- Jakus, V. 2000. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy.* 101: 541-51.
- Kabera, J. N., E. Semana, A. R. Mussa & X. He. 2014. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2: 377-392.
- Kand'ar, R., P. Zakova, & V. Muz'akova. 2006. Monitoring of antioxidant properties of uric acid in humans for a consideration measuring of levels of

- allantoin in plasma by liquid chromatography. *Clin. Chim. Acta.* 365: 249-256.
- Kasote, D. M., S. S. Katyare, M. V. Hegde, & H. Bae. 2015. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences.* 11(8): 982-991.
- Keng, H. 1990. *The Concise Flora of Singapore: Gymnosperms and Dicotyledons.* Singapore: NUS Press.
- Khoddami, A., M. Wilkes, & T. Robert. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules.* 18: 2328-2375.
- Krishnaiah, D., R. Sarbatly, & R. Nithyanandam. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing.* 89: 217–233.
- Lee, B. L., J. Su, J., & C. N. Ong. 2004. Monomeric C18 chromatographic method for the liquid chromatographic determination of lipophilic antioxidants in plants. *Journal of Chromatography.* 1048: 263–267.
- Lemmens, R. H. M. J. & N. Bunyaphatsara. 1999. Plant resources of South-East Asia: medicinal and poisonous plants 3. *Prosea Foundation.* 12(3): 371.
- Lobo, V., A. Phatak, & N. Chandra. 2010. Free radicals and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4: 118–126.
- Lohézic-Le Dévéhat, F., S. Tomasi, D. Fontanel & J. Boustie. 2002<sup>a</sup>. Flavonols from *Scurrula ferruginea* Danser (Loranthaceae). *Z. Naturforsch C.* 57: 1092–1095.
- Lohézic-Le Dévéhat, F., A. Bakhtiar, C. Bézin, M. Amoros, & J. Boustie. 2002<sup>b</sup>. Antiviral and cytotoxic activities of some Indonesian plants. *Fitoterapia.* 73: 400–405.
- Lü, J., P. H. Lin, Q. Yao, & C. Chen. 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell Mod. Med.* 14: 840–860.

- Manurung, N. V. 2016. Karakterisasi Simplisia dan Skrining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Benalu Kopi (*Scurrula ferruginea* (Jack.) Danser) dengan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Marvibaigi, M., N. Amini, E. Supriyanto, S. Jamil, F. A. A. Majid, & S. Khangholi. 2014. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial properties of *Scurrula ferruginea* extracts. *Jurnal Teknologi*. 70(5):65–72.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26(2): 212.
- Nawar, W.W. 1996. Lipids. Dalam Fenomena OR, editor. Food Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Marcel dekker. New York
- Nely, F. 2007. Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar dan Bubuk Rempah Pabrik dengan Metode Polifenol Dan Uji AOM (Active Oxygen Method). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nganggu, Y. P. H. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Radikal DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser pada Tanaman *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. Ex S. Moroe. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Nugroho, A. E. 2007. Manggis (*Garcinia mangostana* L.): dari kulit buah yang terbuang hingga menjadi kandidat suatu obat. *MOT*. 12(42).
- Oak, M. H., J. El Bedoui, & V. B. Schini-Kerth. 2005. Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16: 1–8.
- Ortega, R. M. 2006. Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Public Health Nutr*. 9(8A): 1136-1140.
- Othman S. 1988. Cardiovascular Effect of Loranthus Ferrugineus Roxb (A Local Mistletoe). *Tesis*. Malaysia: Universiti Sains Malaysia.
- Palace, V.P., N. Khaper, Q. Qin, & P. K. Singal. 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic. Biol. Med*. 26: 746–761.

- Pamungkas, D. K. 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*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Pietta, P. G. 2000. Reviews: Flavonoid as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.
- Prasetyo, S., W. Arfianto, & T. Hudaya. 2015. The Pre-chromatography Purification of Crude Oleoresin of Phaleria Macrocarpa Fruit Extracts by Using 70%-v/v Ethanol. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. 18 Maret 2015. *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*: 1-8.
- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. *Clin. Interv. Aging.* 2: 219–236.
- Ratnam, D.V., D. D. Ankola, V. Bhardwaj, D. K. Sahana, & N. M. V. R. Kumar. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J. Control Release.* 113: 189–207.
- 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). *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.
- Sayuti, K. & R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Shahidi, F., P. K. Janitha, & P. D. Wanasundara. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32: 67–103.
- Shi, J., H. Nawaz, J. Pohorly, G. Mittal, Y. Kakuda, & Y. Jiang. 2005. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. *Food Rev. Int.* 21: 139-166.
- Singleton, V.L., R. Orthofer, & R. M. Lamuela-Raventos. 1974. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.



- Squadrito, G.L. & Pryor, W.A. 1998. Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxy nitrite and carbon dioxide. *Free Radic. Biol. Med.* 25: 392–403.
- Steenvoorden, D. P. T. & G. M. J. B. Henegouwen. 1997. The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection. *J. Photochem. Photobiol.* 41: 1–10.
- Tampubolon, N. 2016. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Benalu Kopi (*Scurrula ferrugenia* (Jack) Danser) terhadap Radang pada Tikus yang Diinduksi Karagenan. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara Program Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi.
- Tarmadi, D., I. Guswenrivo, A. H. Prianto, & S. Yusuf. 2012. The Effect of *Cerbera manghas* (APOCYNACEAE) Seed Extract Against Storage Product Pest *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Proceedings The 2nd International Symposium For Sustainable Humanosphere*. 29 Agustus 2012. *Research and Development Unit for Biomaterials–LIPI*: 70–75.
- Teh, S.S., A. E. D. Bekhit, & J. Birch. 2014. Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvent. *Antioxidants*. 3: 67–80.
- Tursiman, Ardiningsih, P., & R. Nofiani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1): 45–48.
- Turunen, M., J. Olsson, & G. Dallner. 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim. Biophys. Acta*. 1660(1–2): 171–199.
- Ulfa, E. U. & M. A. Hidayat. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah naga (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*. 8(1): 83–90.
- Valko, M., M. Izakovic, M. Mazur, C. J. Rhodes, & J. Telser. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.* 266(1–2): 37–56.
- Vermerris, W. & R. Nicholson. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Netherlands: Springer.



- Vicas, S. I., D. Rugina, & C. Socaciu. 2011. Comparative study about antioxidant activities of *Viscum album* from different host trees, harvested in different seasons. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(11): 2237–2244.
- WHO. 2016<sup>a</sup>. *Assessing National Capacity for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. 2016<sup>b</sup>. *Global Death by Cause, Age, and Sex, by WHO Region, and by Country*. Geneva: World Health Organization.
- Wiernsperger, N.F., 2003. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab*. 29: 579–585.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus (Anggota IKAPI).
- Yang, C. S., J. M. Landau, M. T. Huang, & H. L. Newmark, H. L. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition*. 21: 381–406.
- Yao, L. H., Y. M. Jiang, J. Shi, F. A. Tomas-Barberan, N. Datta, R. Singanusong, & S. S. Chen. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*. 59: 113–122.

## Lampiran 4.1 Lembar determinasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0181 /IPH.6/HM/II/2017

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

Nur Laily Khomsiah, NIM : 132210101058

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 31 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 74 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Scurrula*  
Species : *Scurrula ferruginea* (Jack.) Dans.

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

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Rosidae*  
Ordo : *Santalales*  
Family : *Loranthaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 9 Pebruari 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



*Deden Mudiana, S.Hut, M.Si*

### Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi



Keterangan: (a) Ekstrak etanol, (b) fraksi n-heksana, (c) fraksi etil asetat, dan (d) fraksi air daun *S. ferruginea* pada inang apel manalagi

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

a. Ekstrak Etanol

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{11,2826 \text{ g}}{50,0188 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 22,557\% \end{aligned}$$

c. Fraksi Etil Asetat

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{2,3698 \text{ g}}{6,0070 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 39,451\% \end{aligned}$$

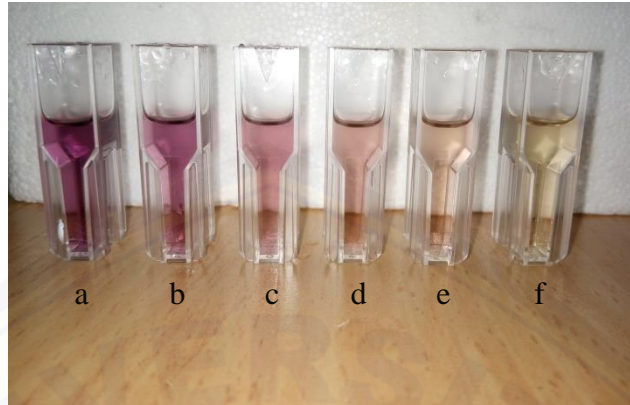
b. Fraksi n-Heksana

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{0,2738 \text{ g}}{6,0070 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,558\% \end{aligned}$$

d. Fraksi Air

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{2,1348 \text{ g}}{6,0070 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 35,539\% \end{aligned}$$

### Lampiran 4.3 Perhitungan DPPH dan larutan uji



Keterangan: Pengujian aktivitas antioksidan vitamin C; (a) 5  $\mu\text{g/ml}$ , (b) 10  $\mu\text{g/ml}$ , (c) 15  $\mu\text{g/ml}$ , (d) 20  $\mu\text{g/ml}$ , (e) 25  $\mu\text{g/ml}$ , dan (f) 30  $\mu\text{g/ml}$

#### 1. Perhitungan DPPH

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

Mr DPPH ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ) = 394,33 g/mol (Molyneux, 2004)

$$\text{Molar} = \frac{\text{massa(g)}}{\text{Mr}} \times \frac{1.000}{\text{Volum(ml)}}$$

$$0,1 \text{ mM} = \frac{\text{massa(mg)}}{394,33 \text{ g/mol}} \times \frac{1.000}{50,00 \text{ ml}}$$

$$\text{massa(mg)} = 1,975 \text{ mg}$$

#### 2. Pembuatan larutan uji

##### a. Vitamin C

Larutan Induk:

$$\text{i. } \frac{25,4 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.016 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{ii. } \frac{20,0 \text{ mg}}{10,00 \text{ ml}} = 2.000 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml} = 50,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 2.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 50,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 50,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 50,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Sampel	Seri konsentrasi
Replikasi 1	5,08; 10,0; 15,2; 20,0; 25,4; 30,0 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 2	5,04; 10,1; 15,1; 20,2; 25,2; 30,3 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 3	5,06; 10,2; 15,2; 20,3; 25,3; 30,5 $\mu\text{g/ml}$

b. Ekstrak Etanol

Larutan Induk:

i.  $\frac{25,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.020 \text{ } \mu\text{g/ml}$

ii.  $\frac{20,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 2.030 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.020 \text{ } \mu\text{g/ml} = 102 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 2.030 \text{ } \mu\text{g/ml} = 203 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/ml} = 61,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$



Sampel	Seri konsentrasi
Replikasi 1	5,10; 10,2; 20,4; 30,6; 40,6; 61,2 µg/ml
Replikasi 2	5,12; 10,2; 20,5; 30,7; 40,8; 61,4 µg/ml
Replikasi 3	5,06; 10,1; 20,2; 30,4; 40,4; 60,7 µg/ml

## c. Fraksi n-Heksana

Larutan Induk:

i.  $\frac{25,3 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.012 \text{ µg/ml}$

ii.  $\frac{20,3 \text{ mg}}{10,00 \text{ ml}} = 2.030 \text{ µg/ml}$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.012 \text{ µg/ml} = 607,2 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 607,2 \text{ µg/ml} = 121,4 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 607,2 \text{ µg/ml} = 182,2 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{4,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 607,2 \text{ µg/ml} = 242,9 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 2.030 \text{ µg/ml} = 203 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{5,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203 \text{ µg/ml} = 101,5 \text{ µg/ml}$$

$$\frac{4,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 203 \text{ µg/ml} = 162,4 \text{ µg/ml}$$

Sampel	Seri konsentrasi
Replikasi 1	101,5; 121,4; 162,4; 182,2; 203; 242,9 µg/ml
Replikasi 2	102,5; 121,4; 164,0; 182,2; 205,0; 242,9 µg/ml
Replikasi 3	101,0; 121,9; 161,6; 182,9; 202,0; 243,8 µg/ml

## d. Fraksi Etil Asetat

Larutan Induk:

i.  $\frac{20,6 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 824 \text{ } \mu\text{g/ml}$

ii.  $\frac{20,2 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 808 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 824 \text{ } \mu\text{g/ml} = 41,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 808 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 41,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,12 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 80,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 8,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 41,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 12,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 80,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 16,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 40,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 24,7 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 80,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 32,3 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Sampel	Seri konsentrasi
Replikasi 1	4,12; 8,08; 12,4; 16,2; 24,7; 32,3 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 2	4,04; 8,12; 12,1; 16,2; 24,2; 32,5 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 3	4,08; 8,04; 12,2; 16,1; 24,5; 32,2 $\mu\text{g/ml}$

## e. Fraksi Air

Larutan Induk:

i.  $\frac{25,3 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml}$

ii.  $\frac{20,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 2.040 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 2040 \text{ } \mu\text{g/ml} = 204 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,06 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,500 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 204 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

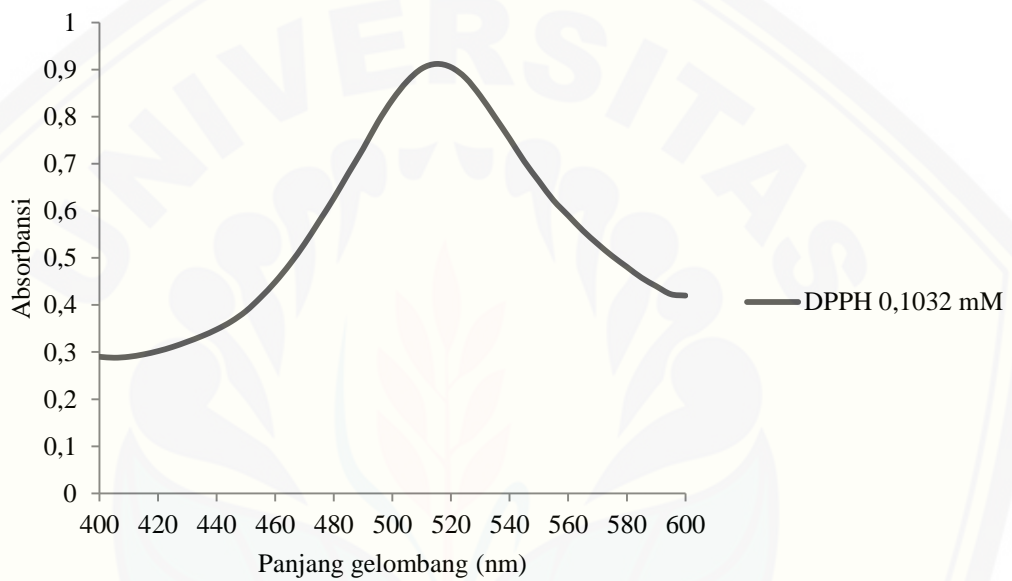
$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,3 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60,7 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Sampel	Seri konsentrasi
Replikasi 1	5,06; 10,2; 20,2; 30,3; 40,8; 60,7 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 2	5,10; 10,1; 20,4; 30,6; 40,4; 61,2 $\mu\text{g/ml}$
Replikasi 3	5,10; 10,3; 20,4; 30,6; 41,0; 61,2 $\mu\text{g/ml}$

**Lampiran 4.4 Penentuan panjang gelombang DPPH**

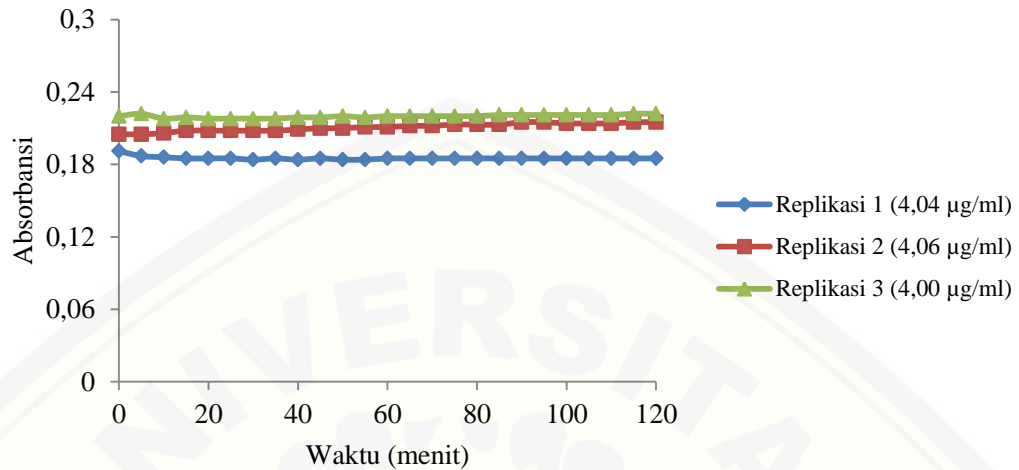
Data Mode : ABS  
Scan Range : 600,0-400,0 nm  
Slit Width : 4 nm  
Speed (nm/min) : 800 nm/min  
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Keterangan: Spektra panjang gelombang maksimum DPPH terpilih, yaitu 515 nm

### Lampiran 4.5 Penentuan waktu inkubasi

#### a. Vitamin C

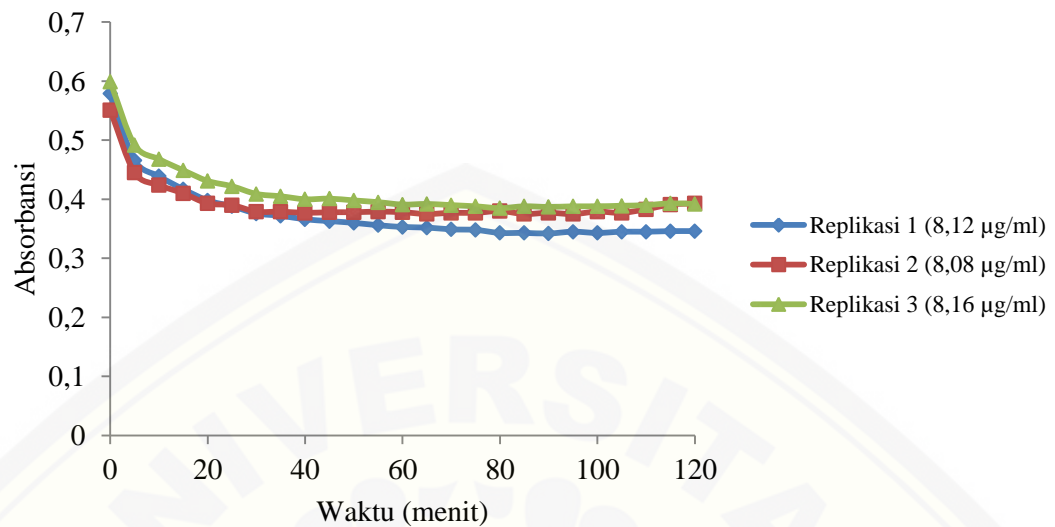


Keterangan: Waktu inkubasi vitamin C yang terpilih, yaitu 15 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (4,04 µg/ml)	Replikasi 2 (4,06 µg/ml)	Replikasi 3 (4,00 µg/ml)
0	0,191	0,205	0,220
5	0,187	0,205	0,222
10	0,186	0,206	0,218
15	0,185	0,208	0,219
20	0,185	0,208	0,218
25	0,185	0,208	0,218
30	0,184	0,208	0,218
35	0,185	0,208	0,218
40	0,184	0,209	0,219
45	0,185	0,210	0,219
50	0,184	0,210	0,220
55	0,184	0,211	0,219
60	0,185	0,211	0,220
65	0,185	0,212	0,220
70	0,185	0,212	0,220
75	0,185	0,213	0,220
80	0,185	0,213	0,220
85	0,185	0,213	0,221
90	0,185	0,215	0,221
95	0,185	0,215	0,221
100	0,185	0,214	0,221
105	0,185	0,214	0,221
110	0,185	0,214	0,221
115	0,185	0,215	0,222
120	0,185	0,215	0,222



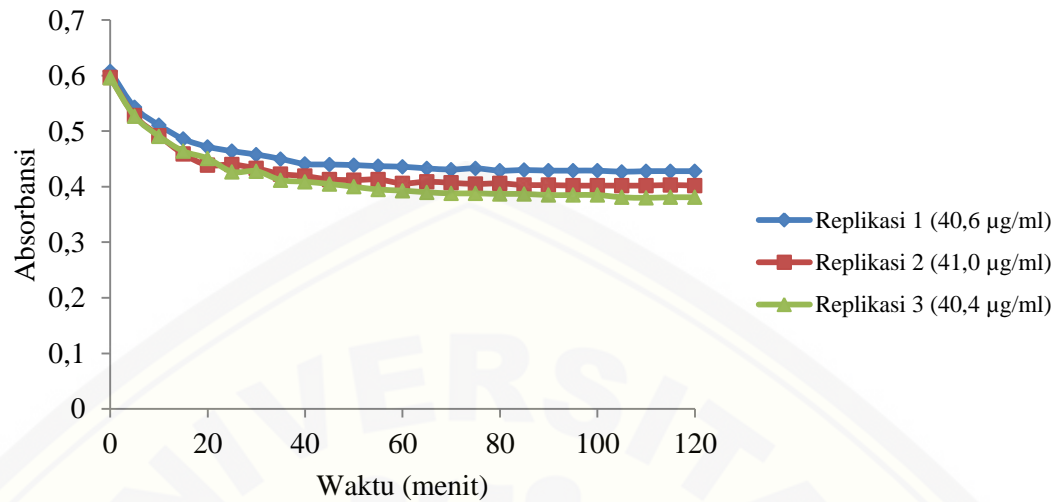
## b. Ekstrak Etanol



Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol yang terpilih, yaitu 70 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (8,12 µg/ml)	Replikasi 2 (8,08 µg/ml)	Replikasi 3 (8,16 µg/ml)
0	0,579	0,551	0,599
5	0,466	0,445	0,492
10	0,439	0,424	0,468
15	0,417	0,410	0,449
20	0,398	0,393	0,431
25	0,388	0,390	0,422
30	0,376	0,379	0,409
35	0,372	0,379	0,405
40	0,366	0,377	0,400
45	0,363	0,378	0,401
50	0,360	0,378	0,398
55	0,356	0,379	0,395
60	0,353	0,378	0,391
65	0,352	0,375	0,392
70	0,349	0,377	0,390
75	0,348	0,377	0,388
80	0,343	0,380	0,385
85	0,343	0,375	0,388
90	0,342	0,377	0,387
95	0,345	0,375	0,388
100	0,343	0,379	0,388
105	0,345	0,377	0,389
110	0,345	0,383	0,390
115	0,346	0,391	0,393
120	0,346	0,393	0,392

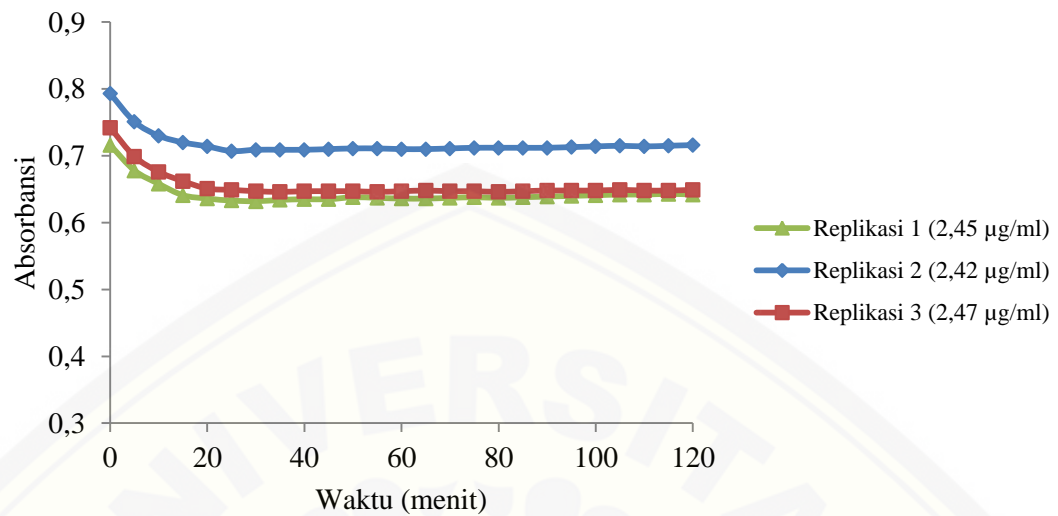
## c. Fraksi n-Heksana



Keterangan: Waktu inkubasi fraksi n-heksana yang terpilih, yaitu 80 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (40,6 µg/ml)	Replikasi 2 (41,0 µg/ml)	Replikasi 3 (40,4 µg/ml)
0	0,608	0,597	0,596
5	0,543	0,528	0,527
10	0,511	0,492	0,491
15	0,486	0,459	0,464
20	0,472	0,439	0,451
25	0,464	0,440	0,427
30	0,458	0,433	0,428
35	0,450	0,423	0,412
40	0,441	0,419	0,409
45	0,44	0,413	0,405
50	0,439	0,412	0,400
55	0,437	0,413	0,395
60	0,436	0,406	0,393
65	0,433	0,409	0,390
70	0,431	0,407	0,388
75	0,433	0,405	0,388
80	0,429	0,406	0,387
85	0,430	0,403	0,387
90	0,429	0,403	0,385
95	0,429	0,402	0,385
100	0,429	0,402	0,385
105	0,427	0,402	0,381
110	0,428	0,402	0,380
115	0,428	0,403	0,381
120	0,428	0,402	0,381

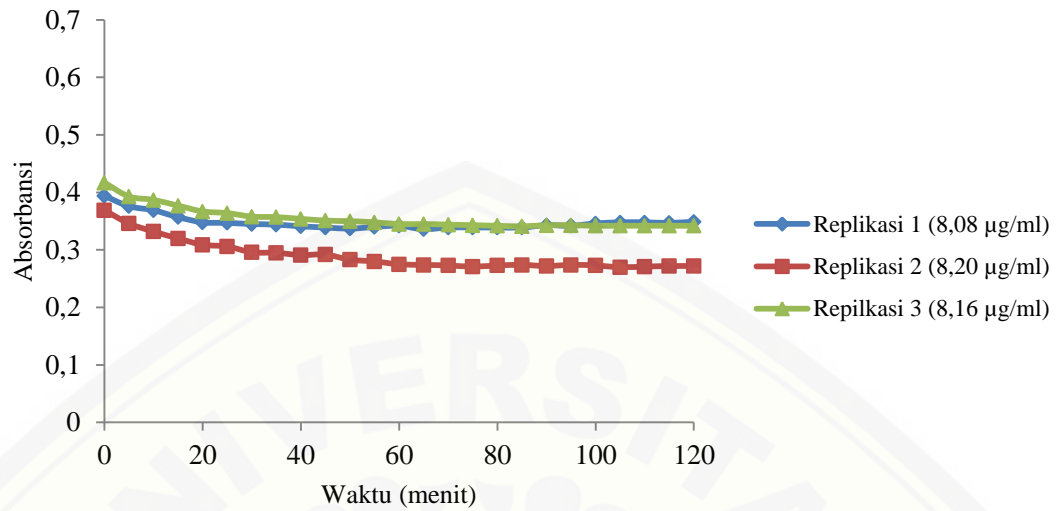
## d. Fraksi Etil Asetat



Keterangan: Waktu inkubasi fraksi etil asetat yang terpilih, yaitu 25 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (2,45 µg/ml)	Replikasi 2 (2,42 µg/ml)	Replikasi 3 (2,47 µg/ml)
0	0,793	0,742	0,716
5	0,751	0,699	0,678
10	0,730	0,676	0,658
15	0,720	0,662	0,641
20	0,714	0,651	0,636
25	0,707	0,649	0,633
30	0,709	0,647	0,632
35	0,709	0,646	0,634
40	0,709	0,647	0,635
45	0,710	0,647	0,635
50	0,711	0,647	0,638
55	0,711	0,646	0,637
60	0,710	0,647	0,636
65	0,710	0,648	0,636
70	0,711	0,647	0,637
75	0,712	0,647	0,638
80	0,712	0,646	0,637
85	0,712	0,647	0,638
90	0,712	0,648	0,639
95	0,713	0,648	0,640
100	0,714	0,648	0,641
105	0,715	0,649	0,642
110	0,714	0,648	0,642
115	0,715	0,648	0,643
120	0,716	0,649	0,642

## e. Fraksi Air



Ket: Waktu inkubasi fraksi air yang terpilih, yaitu 60 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (8,12 µg/ml)	Replikasi 2 (8,08 µg/ml)	Replikasi 3 (8,16 µg/ml)
0	0,394	0,369	0,417
5	0,376	0,346	0,393
10	0,369	0,332	0,387
15	0,357	0,320	0,377
20	0,348	0,309	0,367
25	0,347	0,306	0,364
30	0,345	0,296	0,358
35	0,344	0,295	0,357
40	0,341	0,291	0,354
45	0,339	0,292	0,351
50	0,337	0,283	0,350
55	0,340	0,280	0,348
60	0,342	0,275	0,345
65	0,336	0,274	0,345
70	0,339	0,273	0,344
75	0,339	0,271	0,343
80	0,339	0,273	0,342
85	0,339	0,274	0,341
90	0,343	0,272	0,343
95	0,342	0,274	0,343
100	0,346	0,273	0,342
105	0,348	0,270	0,342
110	0,348	0,271	0,342
115	0,347	0,272	0,342
120	0,349	0,272	0,342

**Lampiran 4.6 Perhitungan peredaman DPPH dan IC<sub>50</sub>**

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

Sampel	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Rata-rata IC <sub>50</sub> (µg/ml)	SD	RSD (%)
Vitamin C	3,400	3,393	0,0327	0,964
	3,358			
	3,423			
Ekstrak Etanol	5,580	5,648	0,0604	1,069
	5,695			
	5,670			
Fraksi n- Heksana	22,977	22,929	0,0506	0,221
	22,876			
	22,934			
Fraksi Etil Asetat	3,696	3,734	0,0344	0,920
	3,742			
	3,764			
Fraksi Air	6,201	6,105	0,0895	1,466
	6,024			
	6,090			



## a. Vitamin C

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,02	0,921	0,800	13,138	3,400
2,00	0,921	0,650	29,425	
3,05	0,921	0,490	46,797	
4,00	0,921	0,374	59,392	
5,08	0,921	0,237	74,267	
6,00	0,921	0,110	88,056	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,01	0,921	0,807	12,378	3,358
2,02	0,921	0,637	30,836	
3,02	0,921	0,498	45,928	
4,04	0,921	0,353	61,672	
5,04	0,921	0,231	74,919	
6,06	0,921	0,091	90,119	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,01	0,921	0,812	11,835	3,423
2,03	0,921	0,641	30,402	
3,04	0,921	0,511	44,517	
4,06	0,921	0,368	60,043	
5,06	0,921	0,226	75,461	
6,09	0,921	0,100	89,142	

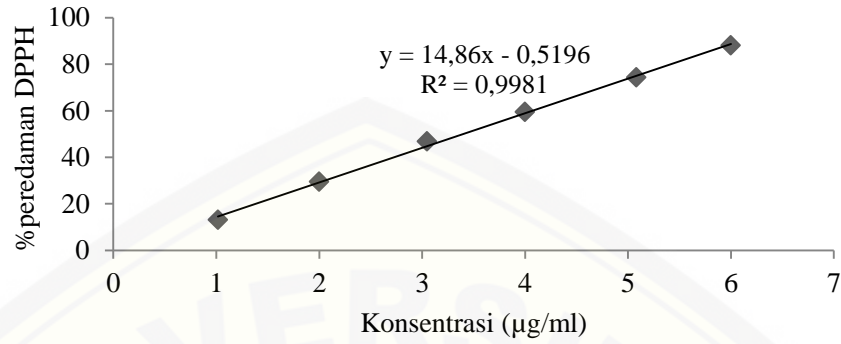
Rata-rata IC<sub>50</sub> = 3,393  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,0327

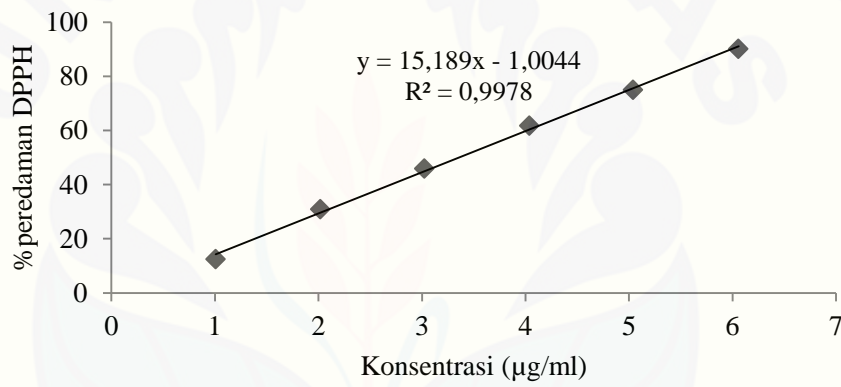
RSD = 0,964%

- Regresi Linier IC<sub>50</sub> Vitamin C

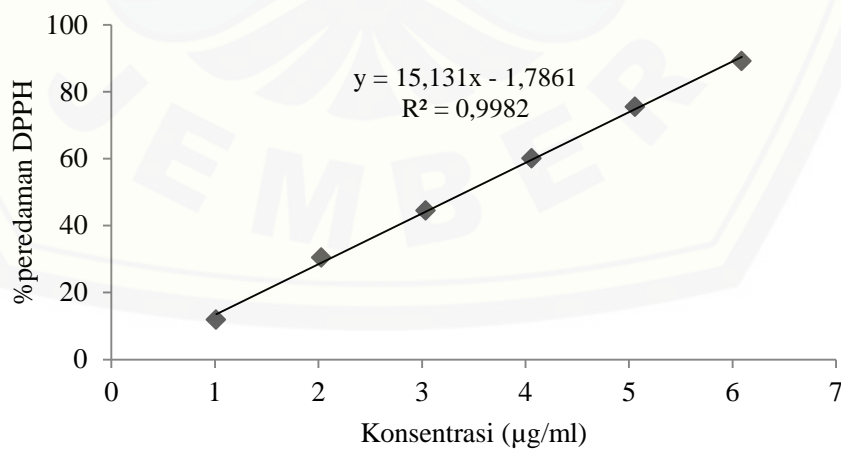
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**



**Replikasi 3**



## b. Ekstrak Etanol

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,02	0,912	0,750	17,763	5,580
2,03	0,912	0,657	27,961	
4,10	0,912	0,542	40,570	
6,14	0,912	0,403	55,811	
8,12	0,912	0,279	69,408	
12,3	0,912	0,092	89,912	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,02	0,912	0,735	19,408	5,695
2,04	0,912	0,653	28,399	
4,10	0,912	0,552	39,474	
6,14	0,912	0,416	54,386	
8,16	0,912	0,283	68,969	
12,3	0,912	0,120	86,842	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,01	0,912	0,727	20,285	5,670
2,02	0,912	0,682	25,219	
4,05	0,912	0,526	42,325	
6,07	0,912	0,418	54,167	
8,08	0,912	0,304	66,667	
12,1	0,912	0,115	87,390	

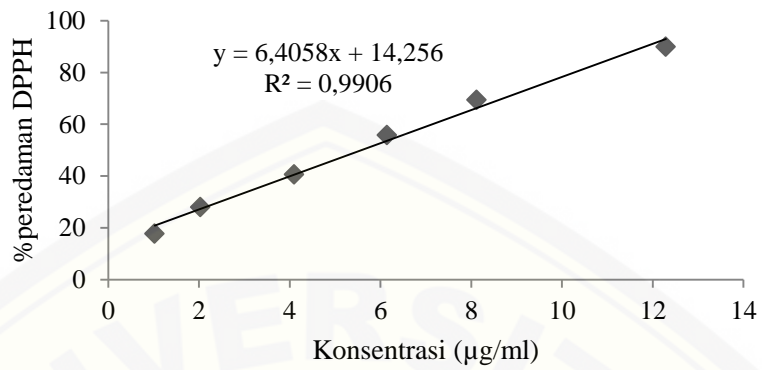
Rata-Rata IC<sub>50</sub> = 5,648  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,0604

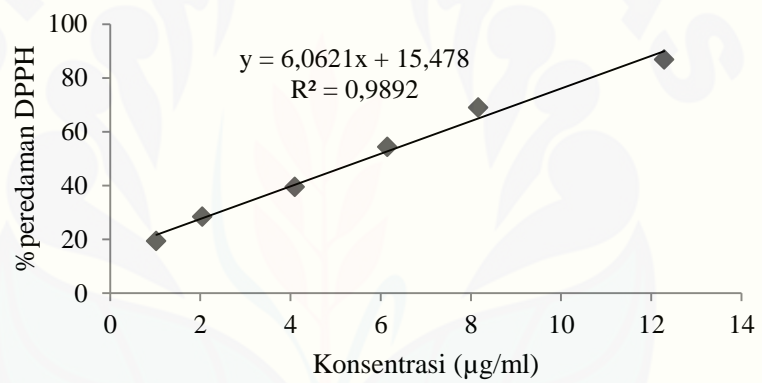
RSD = 1,069%

- Regresi linier IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol

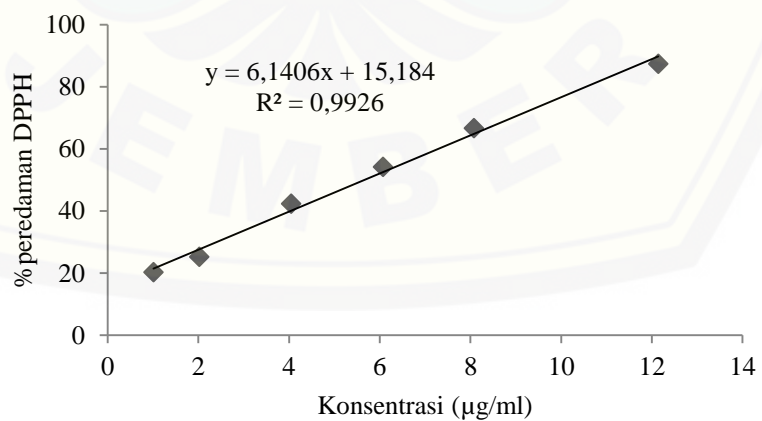
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**



**Replikasi 3**



## c. Fraksi n-Heksana

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
20,30	0,904	0,485	46,350	22,977
24,29	0,904	0,420	53,540	
32,48	0,904	0,361	60,066	
36,43	0,904	0,291	67,810	
40,60	0,904	0,254	71,903	
48,58	0,904	0,141	84,403	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
20,50	0,904	0,471	47,898	22,876
24,29	0,904	0,434	51,991	
32,80	0,904	0,347	61,615	
36,43	0,904	0,311	65,597	
41,00	0,904	0,232	74,336	
48,58	0,904	0,148	83,628	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
20,20	0,904	0,482	46,681	22,934
24,38	0,904	0,434	51,991	
32,32	0,904	0,354	60,841	
36,58	0,904	0,295	67,367	
40,40	0,904	0,271	70,022	
48,77	0,904	0,167	81,527	

Rata-rata IC<sub>50</sub> = 22,929  $\mu\text{g/ml}$

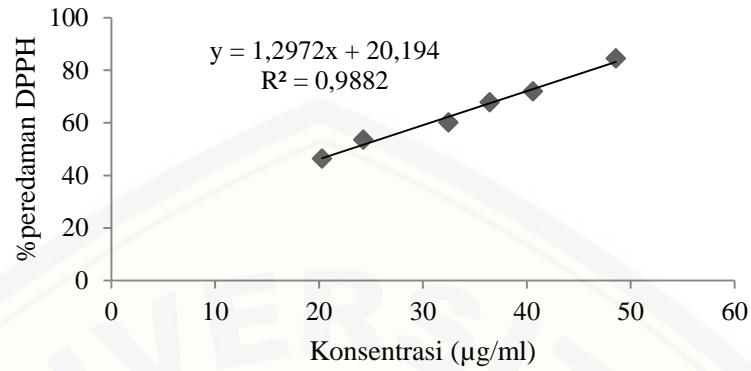
SD = 0,0506

RSD = 0,221%

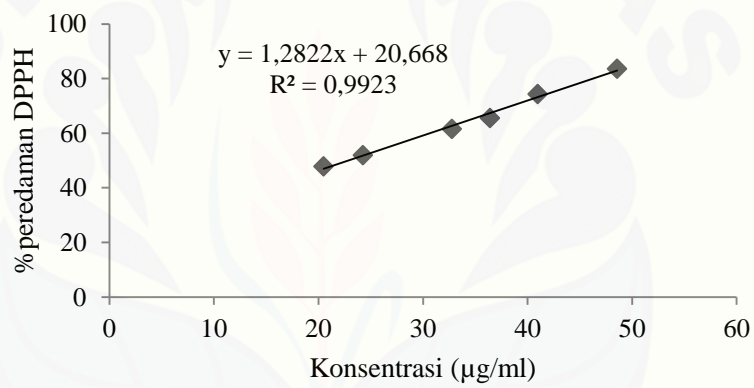


- Regresi linier IC<sub>50</sub> fraksi n-heksana

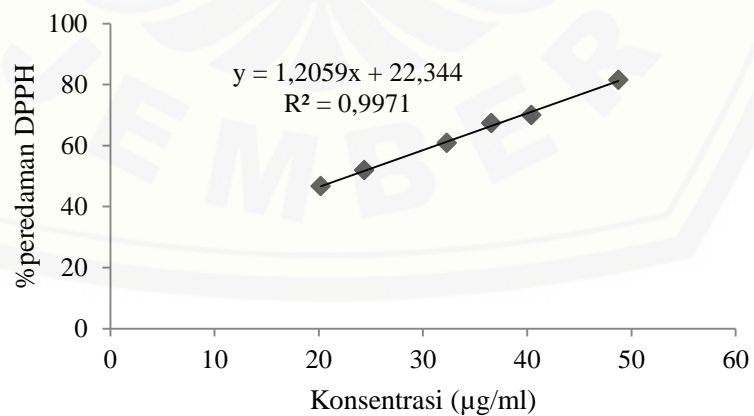
### Replikasi 1



### Replikasi 2



### Replikasi 3



## d. Fraksi Etil Asetat

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
0,824	1,042	0,905	13,148	3,696
1,62	1,042	0,762	26,871	
2,47	1,042	0,653	37,332	
3,23	1,042	0,564	45,873	
4,94	1,042	0,365	64,971	
6,46	1,042	0,198	80,998	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
0,808	1,042	0,921	11,612	3,742
1,62	1,042	0,766	26,488	
2,42	1,042	0,661	36,564	
3,25	1,042	0,551	47,121	
4,85	1,042	0,377	63,820	
6,50	1,042	0,214	79,463	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
0,816	1,042	0,888	14,779	3,764
1,61	1,042	0,786	24,568	
2,45	1,042	0,668	35,893	
3,22	1,042	0,584	43,954	
4,90	1,042	0,404	61,228	
6,43	1,042	0,184	82,342	

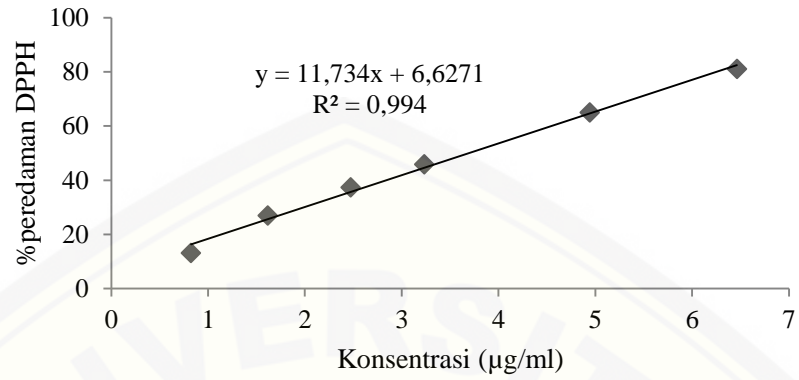
Rata-rata IC<sub>50</sub> = 3,734  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,0344

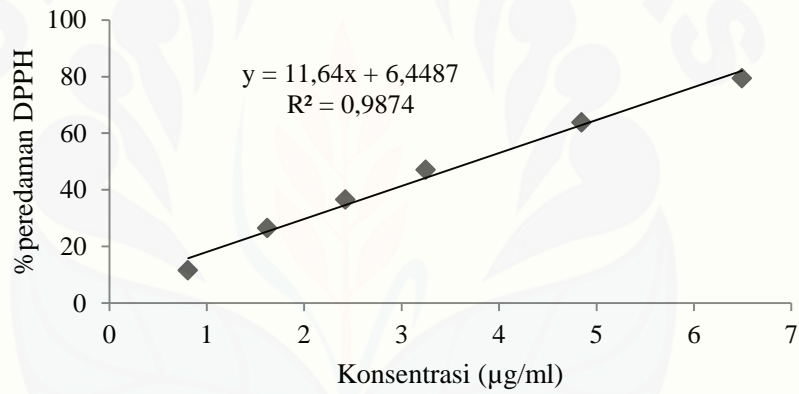
RSD = 0,920%

- Regresi linier fraksi etil asetat

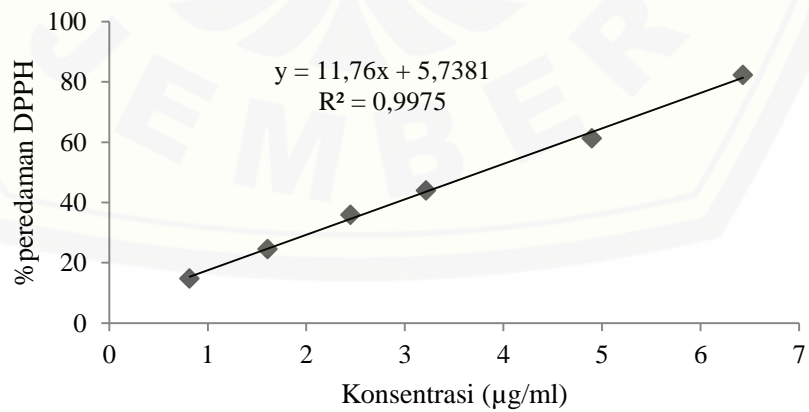
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**



**Replikasi 3**



## e. Fraksi Air

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,01	0,916	0,795	13,210	6,201
2,04	0,916	0,693	24,345	
4,05	0,916	0,576	37,118	
6,07	0,916	0,449	50,983	
8,16	0,916	0,318	65,284	
12,1	0,916	0,136	85,153	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,02	0,916	0,763	16,703	6,024
2,02	0,916	0,717	21,725	
4,08	0,916	0,556	39,301	
6,12	0,916	0,431	52,948	
8,08	0,916	0,313	65,830	
12,2	0,916	0,12	86,900	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,02	0,916	0,781	14,738	6,090
2,05	0,916	0,692	24,454	
4,08	0,916	0,572	37,555	
6,12	0,916	0,441	51,856	
8,20	0,916	0,302	67,031	
12,2	0,916	0,126	86,245	

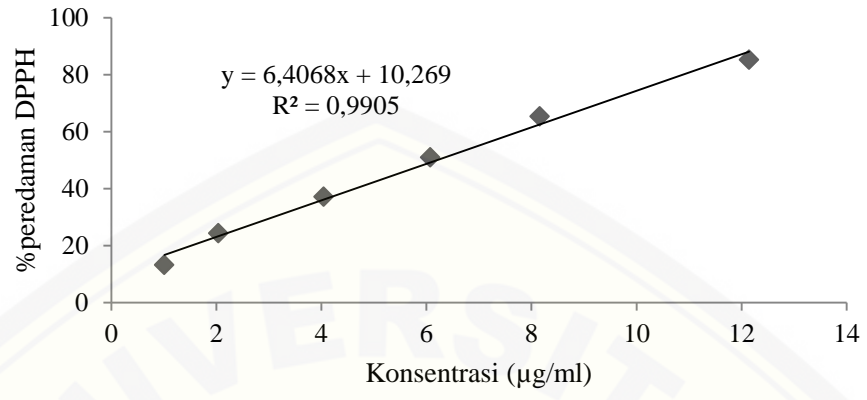
Rata-rata IC<sub>50</sub> = 6,105  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,0895

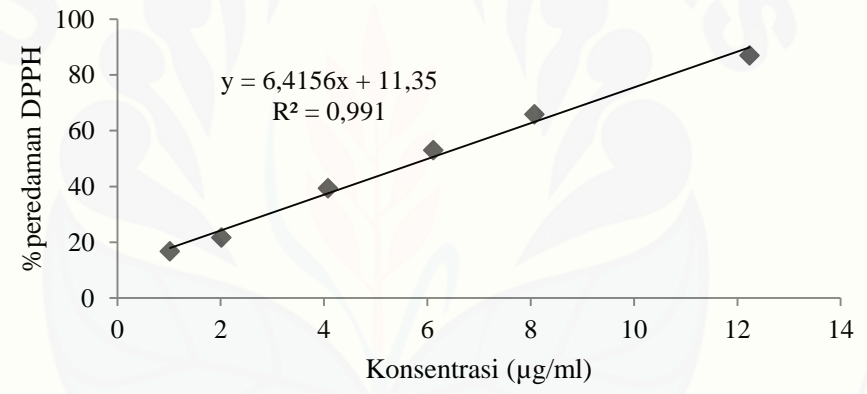
RSD = 1,466%

- Regresi linier IC<sub>50</sub> fraksi air

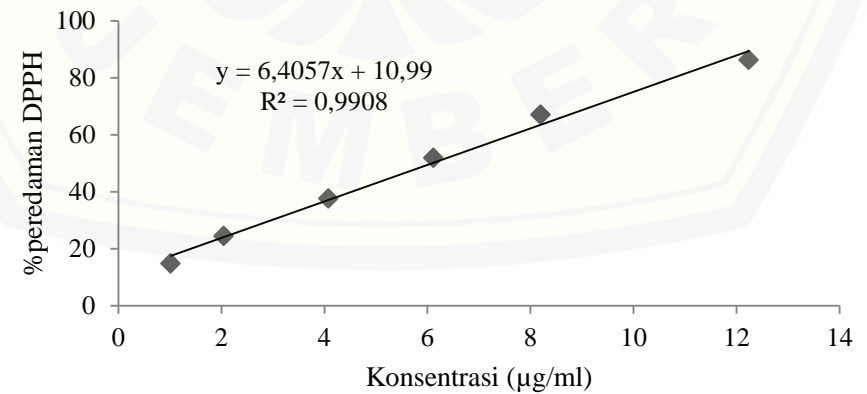
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**

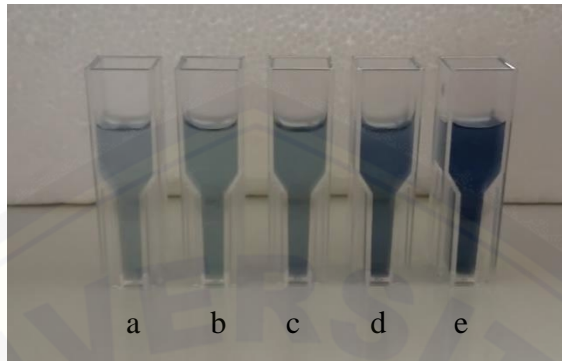


**Replikasi 3**





#### Lampiran 4.7 Pembuatan standar dan larutan uji



Ket: Pengujian kadar fenol total asam galat; (a) 50,8  $\mu\text{g/ml}$  (b) 76,5  $\mu\text{g/ml}$  (c) 101,6  $\mu\text{g/ml}$  (d) 128  $\mu\text{g/ml}$  (e) 152,4  $\mu\text{g/ml}$

##### a. Pembuatan Standar Asam Galat

- Larutan induk 1 =  $\frac{25,6 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.024 \mu\text{g/ml}$
- Larutan induk 2 =  $\frac{25,4 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.016 \mu\text{g/ml}$

##### b. Pengenceran larutan induk

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.024 \mu\text{g/ml} = 102,4 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.016 \mu\text{g/ml} = 203,2 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 102,4 \mu\text{g/ml} = 20,48 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 203,2 \mu\text{g/ml} = 40,64 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 102,4 \mu\text{g/ml} = 51,20 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 203,2 \mu\text{g/ml} = 60,96 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 102,4 \mu\text{g/ml} = 81,92 \mu\text{g/ml}$$

## c. Pembuatan larutan uji

## - Ekstrak Etanol

Replikasi 1

$$\frac{25,3 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,4 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml} = 203,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml} = 201,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## - Fraksi n-Heksana

Replikasi 1

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 301,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 301,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\frac{25,3 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 303,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- Fraksi Etil Asetat

Replikasi 1

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{25,00 \text{ ml}} \times 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80,64 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,2 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{25,00 \text{ ml}} \times 1.008 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80,64 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\frac{25,4 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{25,00 \text{ ml}} \times 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml} = 81,28 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- Fraksi Air

Replikasi 1

$$\frac{25,0 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\frac{25,5 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.020 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.020 \text{ } \mu\text{g/ml} = 102,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

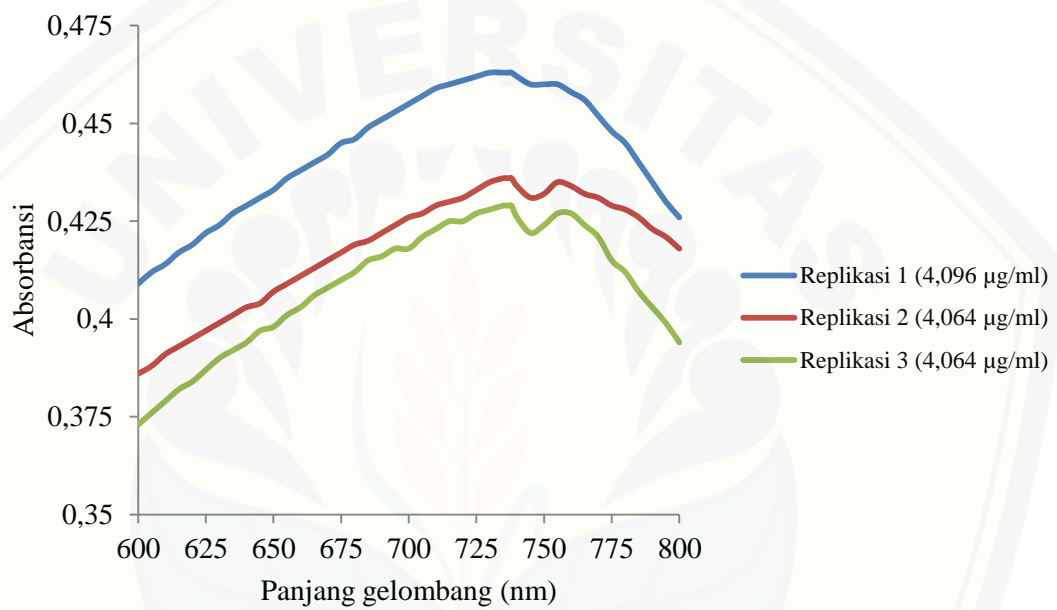
Replikasi 3

$$\frac{25,3 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 1.012 \text{ } \mu\text{g/ml} = 101,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

**Lampiran 4.8 Penentuan panjang gelombang penetapan kadar fenol total**

Data Mode : ABS  
Scan Range : 800,0-600,0 nm  
Slide Width : 4 nm  
Speed (nm/min) : 800 nm  
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm

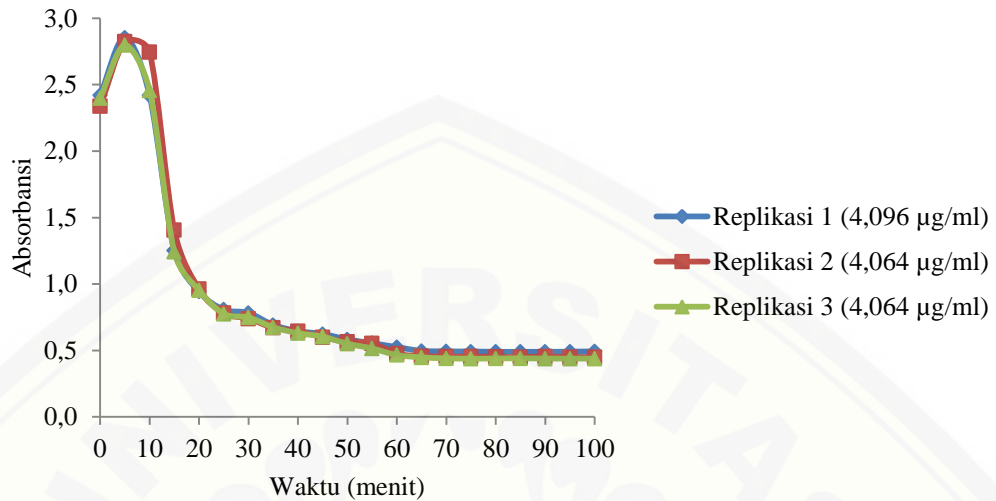


Keterangan: Spektra panjang gelombang maksimum asam galat terpilih, yaitu 737 nm



### Lampiran 4.9 Penentuan waktu inkubasi

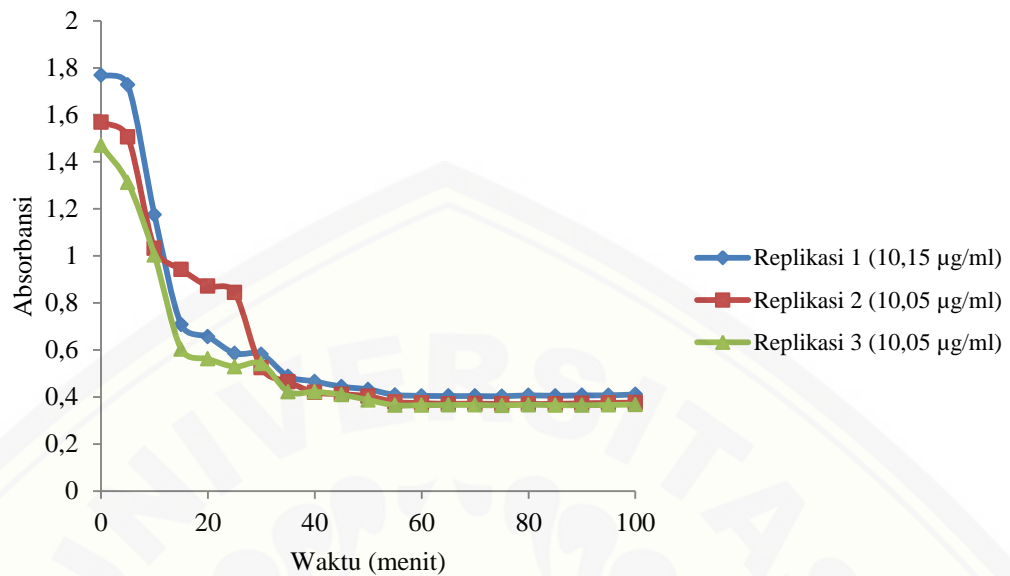
#### a. Asam Galat



Keterangan: Waktu inkubasi asam galat yang terpilih, yaitu 70 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (4,096 µg/ml)	Replikasi 2 (4,064 µg/ml)	Replikasi 3 (4,064 µg/ml)
0	2,420	2,337	2,398
5	2,854	2,824	2,797
10	2,420	2,745	2,456
15	1,252	1,405	1,242
20	0,943	0,962	0,954
25	0,808	0,782	0,776
30	0,783	0,739	0,748
35	0,692	0,671	0,675
40	0,646	0,646	0,630
45	0,624	0,599	0,604
50	0,583	0,566	0,551
55	0,555	0,554	0,515
60	0,525	0,476	0,466
65	0,497	0,458	0,448
70	0,493	0,454	0,441
75	0,492	0,454	0,438
80	0,490	0,452	0,440
85	0,490	0,450	0,441
90	0,490	0,455	0,439
95	0,491	0,450	0,439
100	0,493	0,450	0,439

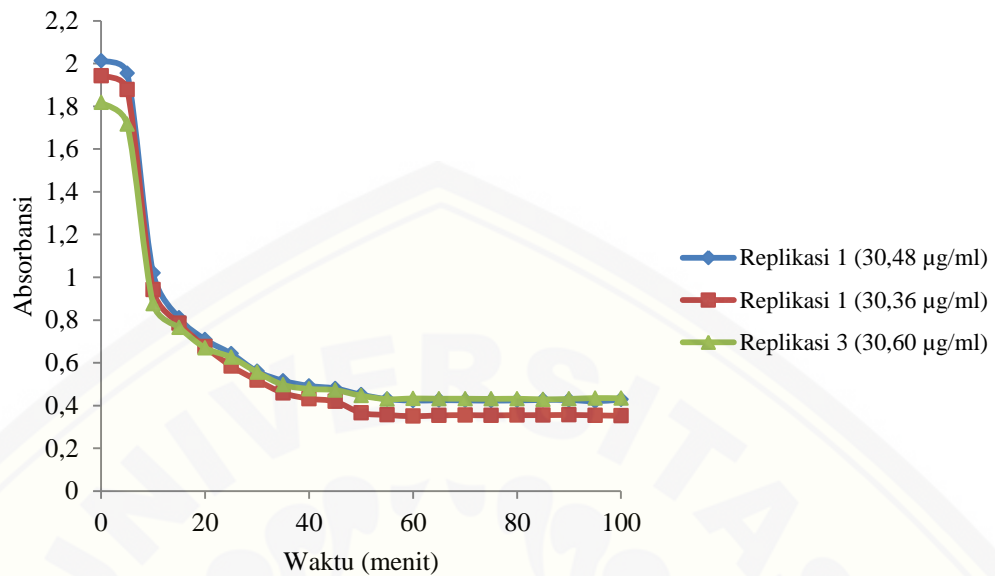
## b. Ekstrak Etanol



Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol yang terpilih, yaitu 55 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (10,15 µg/ml)	Replikasi 2 (10,05 µg/ml)	Replikasi 3 (10,05 µg/ml)
0	1,769	1,568	1,470
5	1,728	1,506	1,313
10	1,175	1,032	1,003
15	0,708	0,943	0,603
20	0,657	0,872	0,562
25	0,586	0,844	0,529
30	0,582	0,524	0,542
35	0,488	0,465	0,423
40	0,466	0,420	0,422
45	0,444	0,412	0,410
50	0,432	0,403	0,387
55	0,409	0,379	0,365
60	0,405	0,374	0,365
65	0,404	0,371	0,366
70	0,404	0,372	0,366
75	0,403	0,370	0,364
80	0,407	0,370	0,367
85	0,405	0,371	0,365
90	0,407	0,373	0,365
95	0,407	0,375	0,366
100	0,411	0,376	0,368

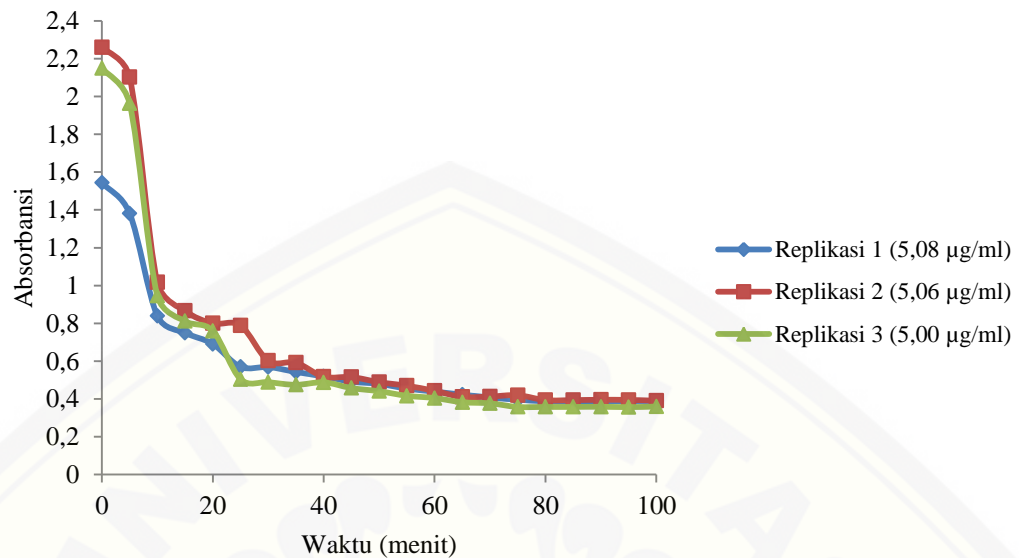
## c. Fraksi n-Heksana



Keterangan: Waktu inkubasi fraksi n-heksana yang terpilih, yaitu 60 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (30,48 µg/ml)	Replikasi 2 (30,36 µg/ml)	Replikasi 3 (30,60 µg/ml)
0	2,013	1,943	1,818
5	1,955	1,879	1,717
10	1,020	0,942	0,877
15	0,810	0,785	0,765
20	0,709	0,675	0,670
25	0,643	0,585	0,626
30	0,560	0,518	0,556
35	0,516	0,459	0,497
40	0,492	0,432	0,478
45	0,480	0,419	0,472
50	0,451	0,366	0,446
55	0,430	0,356	0,430
60	0,423	0,350	0,433
65	0,425	0,354	0,432
70	0,424	0,355	0,432
75	0,423	0,354	0,431
80	0,424	0,355	0,432
85	0,426	0,355	0,429
90	0,426	0,356	0,431
95	0,420	0,354	0,435
100	0,428	0,352	0,434

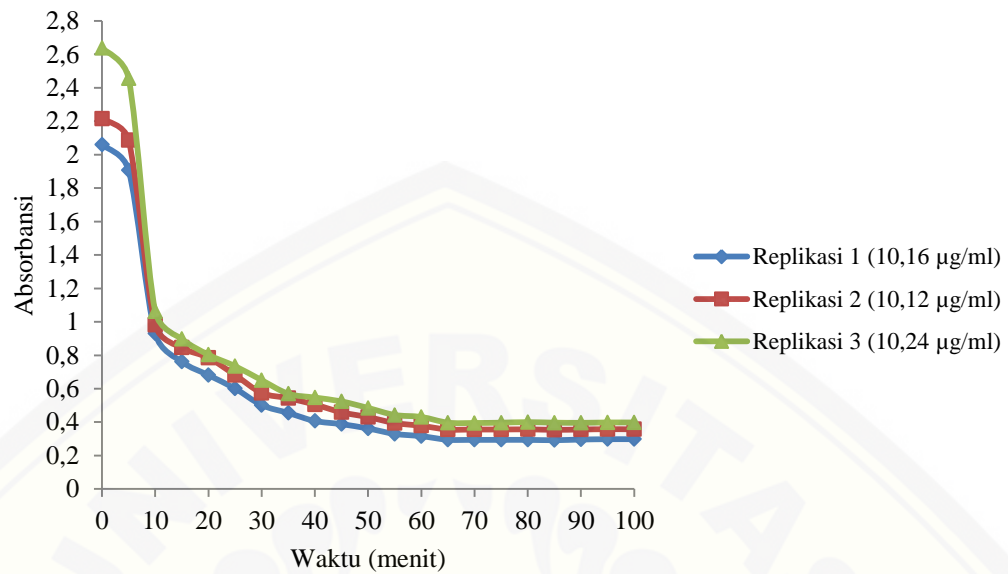
## d. Fraksi Etil Asetat



Keterangan: Waktu inkubasi fraksi etil asetat yang terpilih, yaitu 80 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (5,08 µg/ml)	Replikasi 2 (5,06 µg/ml)	Replikasi 3 (5,00 µg/ml)
0	1,544	2,260	2,149
5	1,382	2,102	1,963
10	0,840	1,017	0,946
15	0,750	0,866	0,812
20	0,691	0,800	0,760
25	0,570	0,789	0,505
30	0,569	0,602	0,489
35	0,543	0,592	0,475
40	0,519	0,518	0,488
45	0,492	0,516	0,458
50	0,480	0,489	0,441
55	0,455	0,470	0,417
60	0,439	0,443	0,405
65	0,423	0,411	0,383
70	0,408	0,413	0,377
75	0,396	0,420	0,358
80	0,388	0,394	0,358
85	0,385	0,394	0,358
90	0,388	0,396	0,359
95	0,389	0,395	0,357
100	0,390	0,391	0,360

## e. Fraksi Air



Keterangan: Waktu inkubasi fraksi air yang terpilih, yaitu 65 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (10,16 $\mu\text{g/ml}$ )	Replikasi 2 (10,12 $\mu\text{g/ml}$ )	Replikasi 3 (10,24 $\mu\text{g/ml}$ )
0	2,060	2,215	2,638
5	1,907	2,086	2,456
10	0,930	0,982	1,062
15	0,762	0,846	0,898
20	0,681	0,785	0,803
25	0,601	0,682	0,735
30	0,502	0,575	0,651
35	0,455	0,543	0,570
40	0,407	0,505	0,547
45	0,388	0,459	0,524
50	0,362	0,430	0,485
55	0,330	0,395	0,443
60	0,316	0,378	0,431
65	0,295	0,356	0,397
70	0,294	0,356	0,395
75	0,294	0,356	0,397
80	0,294	0,357	0,400
85	0,292	0,354	0,397
90	0,296	0,356	0,396
95	0,298	0,358	0,398
100	0,298	0,357	0,398



**Lampiran 4.10 Pengukuran kadar fenol total**

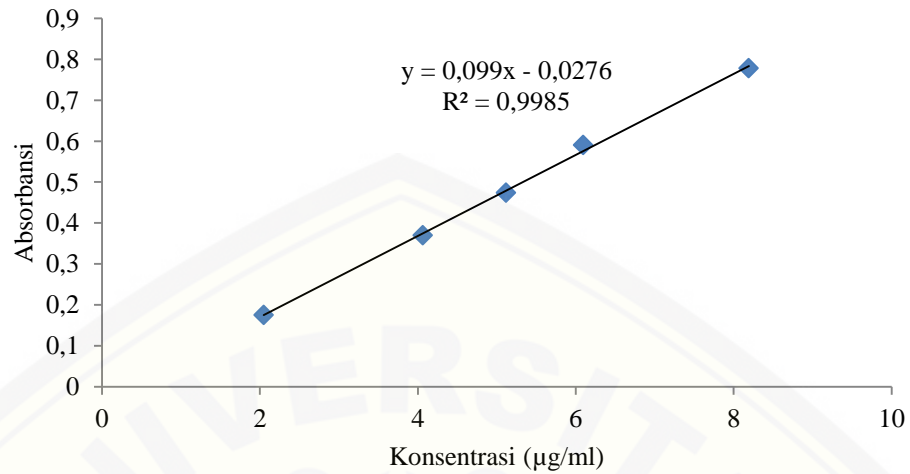
## a. Hasil pengukuran kadar fenol total

Sampel	Kadar mg GAE/g Ekstrak	Rata-rata (mg GAE/g Ekstrak)	SD	RSD (%)
Ekstrak Etanol	648,38	647,71	1,5464	0,23875
	648,81			
	645,94			
Fraksi n- Heksana	134,34	134,44	1,5379	1,1439
	136,02			
	132,95			
Fraksi Etil Asetat	710,98	712,85	1,6455	0,23084
	713,48			
	714,08			
Fraksi Air	444,04	445,34	1,6651	0,37389
	447,22			
	444,76			

## b. Kurva baku standar asam galat

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Faktor pengenceran	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi
20,48	10	2,048	0,176
40,64	10	4,064	0,370
51,2	10	5,12	0,474
60,96	10	6,096	0,591
81,92	10	8,192	0,778

Kurva Baku Asam Galat



c. Perhitungan kadar fenol total sampel

- Ekstrak Etanol

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (µg/ml)	Konsentrasi dalam 25 ml (µg/ml)	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
25,3	0,622	6,562	656,16	16,404	648,38
25,4	0,625	6,592	659,19	16,480	648,81
25,2	0,617	6,511	651,11	16,278	645,94
Rata-rata	= 647,71 mg GAE/g sampel				
SD	= 1,5464				
CV	= 0,23875%				

## - Fraksi n-Heksana

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 25 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
25,1	0,373	4,046	134,88	3,3721	134,34
25,1	0,378	4,097	136,57	3,4141	136,02
25,3	0,372	4,036	134,55	3,3636	132,95
Rata-rata	= 134,44 mg GAE/g sampel				
SD	= 1,5379				
CV	= 1,1439%				

## - Fraksi Etil Asetat

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 25 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
25,2	0,540	5,7333	716,67	17,917	710,98
25,2	0,542	5,7535	719,19	17,979	713,48
25,4	0,547	5,8040	725,51	18,138	714,08
Rata-rata	= 712,85 mg GAE/g sampel				
SD	= 1,6455				
CV	= 0,23084%				

## - Fraksi Air

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 25 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
25,0	0,412	4,4404	444,04	11,101	444,04
25,5	0,424	4,5616	456,16	11,404	447,22
25,3	0,418	4,5010	450,10	11,252	444,76
Rata-rata	= 445,34 mg GAE/g sampel				
SD	= 1,6651				
CV	= 0,37389%				

**Lampiran 4.11 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>)****Tests of Normality**

Sampel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
IC <sub>50</sub> Ekstrak Etanol	.307	3	.	.904	3	.398
Fraksi n-Heksana	.206	3	.	.993	3	.837
Fraksi Etil Asetat	.258	3	.	.960	3	.616
Fraksi Air	.233	3	.	.979	3	.722

Keterangan: data dikatakan normal jika nilai  $p > 0,01$  berdasarkan analisis Shapiro-Wilk

**Test of Homogeneity of Variances**IC<sub>50</sub>

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.979	3	8	.449

Keterangan: data dikatakan homogen jika nilai  $p > 0,01$

**ANOVA**IC<sub>50</sub>

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	719.708	3	239.903	6.218E4	.000
Within Groups	.031	8	.004		
Total	719.739	11			

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok data jika  $p < 0,01$



## Multiple Comparisons

IC50

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak Etanol	Fraksi n-Heksana	-17.280667*	.050715	.000	-17.45084	-17.11050
	Fraksi Etil Asetat	1.914333*	.050715	.000	1.74416	2.08450
	Fraksi Air	-.456667*	.050715	.000	-.62684	-.28650
Fraksi n-Heksana	Ekstrak Etanol	17.280667*	.050715	.000	17.11050	17.45084
	Fraksi Etil Asetat	19.195000*	.050715	.000	19.02483	19.36517
	Fraksi Air	16.824000*	.050715	.000	16.65383	16.99417
Fraksi Etil Asetat	Ekstrak Etanol	-1.914333*	.050715	.000	-2.08450	-1.74416
	Fraksi n-Heksana	-19.195000*	.050715	.000	-19.36517	-19.02483
	Fraksi Air	-2.371000*	.050715	.000	-2.54117	-2.20083
Fraksi Air	Ekstrak Etanol	.456667*	.050715	.000	.28650	.62684
	Fraksi n-Heksana	-16.824000*	.050715	.000	-16.99417	-16.65383
	Fraksi Etil Asetat	2.371000*	.050715	.000	2.20083	2.54117

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar 2 kelompok data jika  $p < 0,01$

**Lampiran 4.12 Hasil analisis varian (ANOVA) kadar fenol total****Tests of Normality**

Sampel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_fenol Ekstrak Etanol	.334	3	.	.859	3	.266
Fraksi n-Heksana	.192	3	.	.997	3	.896
Fraksi Etil Asetat	.317	3	.	.889	3	.350
Fraksi Air	.303	3	.	.909	3	.416

Keterangan: data dikatakan normal jika nilai  $p > 0,01$  berdasarkan analisis Shapiro-Wilk

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar\_fenol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.055	3	8	.982

Keterangan: data dikatakan homogen jika nilai  $p > 0,01$

**ANOVA**

Kadar\_fenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	608568.558	3	202856.186	7.922E4	.000
Within Groups	20.486	8	2.561		
Total	608589.044	11			

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok data jika  $p < 0,01$

## Multiple Comparisons

Kadar\_fenol

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak Etanol	Fraksi n-Heksana	513.27333*	1.30658	.000	508.8893	517.6574
	Fraksi Etil Asetat	-65.13667*	1.30658	.000	-69.5207	-60.7526
	Fraksi Air	202.37000*	1.30658	.000	197.9859	206.7541
Fraksi n-Heksana	Ekstrak Etanol	-513.27333*	1.30658	.000	-517.6574	-508.8893
	Fraksi Etil Asetat	-578.41000*	1.30658	.000	-582.7941	-574.0259
	Fraksi Air	-310.90333*	1.30658	.000	-315.2874	-306.5193
Fraksi Etil Asetat	Ekstrak Etanol	65.13667*	1.30658	.000	60.7526	69.5207
	Fraksi n-Heksana	578.41000*	1.30658	.000	574.0259	582.7941
	Fraksi Air	267.50667*	1.30658	.000	263.1226	271.8907
Fraksi Air	Ekstrak Etanol	-202.37000*	1.30658	.000	-206.7541	-197.9859
	Fraksi n-Heksana	310.90333*	1.30658	.000	306.5193	315.2874
	Fraksi Etil Asetat	-267.50667*	1.30658	.000	-271.8907	-263.1226

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar 2 kelompok data jika  $p < 0,01$

**Lampiran 4.13 Hasil analisis korelasi antara kadar fenol total dengan IC<sub>50</sub>**

		IC <sub>50</sub>	Kadar_fenol
IC <sub>50</sub>	Pearson Correlation	1	-.934*
	Sig. (2-tailed)		.066
	N	4	4
kadar_fenol	Pearson Correlation	-.934*	1
	Sig. (2-tailed)	.066	
	N	4	4

Keterangan: Data dikatakan berkorelasi jika nilai  $p < 0,05$