



**UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KRANGEAN (*Litsea cubeba* Pers)  
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**ARDIAN LUBIS  
NIM. 121810301028**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



UJI AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KRANGEAN (*Litsea cubeba* Pers)  
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Sarjana Sains (S1) dan gelar Sarjana Sains

Oleh  
**ARDIAN LUBIS**  
**NIM 121810301028**

**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. orang tua tercinta, Ali Mustofa dan Imtihanah;
2. adik penulis tersayang Kevin Alva Adinata;
3. keluarga besar penulis di Banyuwangi;
4. guru-guruku sejak taman kanak – kanak hingga perguruan tinggi;
5. almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

## MOTO

Maka nikmat Tuhan manalagi yang kau dustakan.

(Terjemahan *Al-Rahman* ayat13)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *AlQur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

## PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

nama : Ardian Lubis

NIM : 121810301028

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Krangean (*Litsea cubeba* Pers) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, November 2017

Yang menyatakan,

Ardian Lubis

NIM 121810301028

**SKRIPSI**

**UJI AKIVITAS EKSTRAK DAUN KRANGEAN (*Litsea cubeba* Pers)  
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIHIPERLIPIDEMIA**

Oleh

Ardian Lubis

NIM 121810301028

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drh. Wuryanti Handayani, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D.

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Krangean (*Litsea cubeba* Pers) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Pengaji;

Ketua,

Anggota I,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si.  
NIP. 196008221985032002

Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D.  
NIP. 197008101998031001

Anggota II,

Anggota III,

Dr. A. A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.  
NIP. 197012251997022001

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.  
NIP. 197105011998021002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan,

Drs. Sujito, Ph.D.  
NIP. 196102041987111001

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Ekstrak Daun Krangean (*Litsea cubeba* Pers) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia;** Ardian Lubis, 121810301028; 2017: 58 halaman; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Indonesia memiliki beraneka ragam tumbuhan didunia. Keanekaragaman tumbuhan ini sudah terdaftar sebagai tanaman obat sebanyak 283 jenis. salah satu jenis tanaman obat yaitu *Litsea cubeba* Pers atau disebut krangean oleh orang Jawa. Bagian krangean yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat antara lain daun, buah, dan kulit batangnya untuk mengobati gigitan serangga dan juga untuk penawar bisa. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam krangean diduga yang berperan dalam proses penyembuhan akibat terkena bisa dan gigitan serangga. Dalam penelitian ini esktrak daun krangean diuji aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia.

Aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia dianalisis secara *in vitro* berbasis konsentrasi total fenolik ekstrak daun krangean. Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC<sub>50</sub> pada peredaman radikal DPPH dan radikal Superoksida. Nilai IC<sub>50</sub> pada peredaman radikal DPPH yang terkecil menunjukkan aktivitas yang terbaik, sedangkan pada peredaman radikal superoksida ditunjukkan dengan nilai persen peredaman yang paling tinggi. Vitamin C digunakan sebagai standar dalam analisa antioksidan. Uji antihiperlipidemia menggunakan metode penghambatan lipase pankreas dengan orlistat sebagai standar dalam uji penghambatan ini. Aktivitas penghambatan lipase pankreas dapat dilihat dari nilai persen penghambatan terhadap lipase pankreas. Nilai persen penghambatan tertinggi dengan konsentrasi fenolik yang sama menunjukkan aktivitas antihiperlipidemia yang paling baik.

Hasil uji aktivitas antioksidan peredaman DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol krangean (MK) memiliki aktivitas yang baik dibandingkan dengan standar Vitamin C, sedangkan pada metode peredaman superoksida menunjukkan ekstrak etil

asetat krangean (EAK) memiliki nilai persen peredaman yang lebih baik dibandingkan ekstrak yang lainnya namun masih lebih rendah dibandingkan Vitamin C. Ekstrak fenolik daun krangean memiliki aktivitas antihiperlipidemia yang lebih baik dibandingkan dengan orlistat. Persen penghambatan lipase pankreas paling tinggi ditunjukkan EAK dibandingkan dengan ekstrak n-Heksana krangean (HK) dan MK yang memiliki persen penghambatan lipase pankreas lebih kecil dibandingkan EAK.

## **PRAKATA**

Puji syukur atas segala rahmat dan karunia yang dilimpahkan Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Krangean (*Litsea Cubeba Pers*) sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

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

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. drh. Wuryanti Handayani, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, perhatian, dan membimbing penulis selama penulisan skripsi dan selama menjadi mahasiswa
4. Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji I, dan I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Ari Satia Nugraha, S.F.GdipSc., M.Sc., Ph.D., atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
7. segenap dosen pengajar Fakultas MIPA, terutama dosen-dosen Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan;

8. keluarga tercinta yang setia mendukung baik moril dan materiil, mendoakan, mendidik, dan memberi kasih sayang dan pengorbanan yang tidak terhingga selama ini;
9. teman-teman Kimia angkatan 2012 (Lanthanida), terima kasih atas semangat, bantuan, saran, perhatian, dan kenangan yang telah diberikan;
10. teman-teman UKM SPORA dan KOPIWANGI atas semangat dan dukungan yang diberikan;
11. Agung, Beny, Tommy, Nora, Nopi, Ratna, Gepsa, Ardine, Zuni, Kiky dan Endah terima kasih atas doa, dukungan, semangat dan perhatian yang diberikan selama ini;
12. kawan seperjuangan dalam menyelesaikan skripsi di *Center for Development of Advance Science and Technology (CDAST)*, terima kasih atas saran, kerjasama dan bantuannya;
13. semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Jember, November 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	ii
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	vi
<b>RINGKASAN .....</b>	vii
<b>PRAKATA .....</b>	ix
<b>DAFTAR ISI .....</b>	xi
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	1
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	1
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	2
<b>1.3 Batasan Masalah .....</b>	3
<b>1.4 Tujuan Penelitian.....</b>	3
<b>1.5 Manfaat Penelitian .....</b>	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	4
<b>2.1 Taman Nasional Meru Betiri .....</b>	4
<b>2.2 Fitokimia Tanaman Dari Genus <i>Litsea</i>.....</b>	4
2.2.1 Alkaloid .....	4
2.2.2 Flavonoid .....	5
2.2.3 Lignan .....	6
2.2.4 Amida .....	6
2.2.5 Terpenoid .....	7

2.2.6 Butanolida dan Butanolakton.....	7
2.2.7 Senyawa lain .....	7
<b>2.3 Klasifikasi Tanaman Krangean .....</b>	<b>8</b>
<b>2.4 Senyawa Fenolik sebagai Antioksidan .....</b>	<b>9</b>
2.4.1 Klasifikasi Senyawa Fenolik .....	9
2.4.2 Antioksidan.....	10
<b>2.5 Ekstraksi .....</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Analisa Antioksidan .....</b>	<b>14</b>
2.6.1 Analisis Total Fenolik.....	14
2.6.2 Analisis Total Flavonoid.....	15
2.6.3 Analisis Peredaman Radikal DPPH.....	15
2.6.4 Analisis Peredaman Radikan Anion Superoksida .....	16
<b>2.7 Hiperlipidemia .....</b>	<b>18</b>
<b>2.8 Inhibitor Lipase Pankreas.....</b>	<b>19</b>
<b>2.9 Spektrofotometer UV-Vis.....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan .....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan .....	23
<b>3.3 Diagram Alir Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 Prosedur Kerja .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Penentuan Kadar air .....	25
3.4.2 Pembuatan Simplisia Daun Krangean .....	25
3.4.3 Ekstraksi Simplisia Daun Krangean .....	25
3.4.4 Analisis Total Fenolik Ekstrak Daun Krangean .....	26
3.4.5 Analisis Total Flavonoid Ekstrak Daun Krangean .....	27
3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan (Peredaman radikal DPPH dan peredaman radikal anion superoksida .....	27

3.4.7 Aktivitas Penghambatan Lipase .....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Rendemen Simplicia Daun Krangean .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Krangean .....</b>	<b>31</b>
4.2.1 Kandungan Total Fenolik .....	31
4.2.2 Kandungan Total Flavonoid .....	32
4.2.3 Aktivitas Peredaman Radikal DPPH .....	34
4.2.4 Peredaman Radikal Superoksida .....	36
<b>4.3 Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Krangean .....</b>	<b>38</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>40</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>40</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>40</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>48</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Klasifikasi senyawa fenolik .....	10
4.1. Rendemen ekstrak daun Krangean .....	30

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

2.1 Struktur <i>oxonan-tenine</i> .....	5
2.2 Struktur flavonoid .....	5
2.3 Struktur <i>Epiexcelsin</i> (R=OCH <sub>3</sub> ) dan <i>5-demethoxyepiexcelsin</i> (R=H) .....	6
2.4 Struktur <i>cis-N-feruloyl-3-methoxytyramine</i> (a) dan <i>N-feruloyltyramine</i> (b) .....	6
2.5 Struktur sesquiterpen .....	7
2.6 Struktur <i>4-hidroksi-2-methylbut-2-enolide</i> .....	7
2.7 Struktur stilben (a) dan fenil ester (b) .....	8
2.8 Foto tanaman Krangean .....	9
2.9 Struktur kimia fenol .....	10
2.10 Kegunaan gugus fungsi pada kuersetin .....	12
2.11 Reaksi gugus katekol terhadap pengikatan logam .....	13
2.12 Reaksi asam galat dengan natrium karbonat .....	14
2.13 Reaksi pembentukan quino dari kuersetin .....	15
2.14 Reaksi radikal DPPH dengan senyawa antioksidan .....	16
2.15 Reaksi autooksidasi pirogalol .....	17
2.16 Reaksi peredaman radikal anion superoksida oleh kuersetin .....	18
2.17 Pemecahan trigliserida oleh lipase .....	19
2.18 Reaksi enzim dengan substrat dan inhibitor .....	20
2.19 Orlistat .....	20
2.20 Reaksi hidrolisis p-NPB .....	21
4.1 Reaksi Folin-Ciocalteu dengan fenol .....	31
4.2 Total fenolik ekstrak daun krangean .....	32
4.3 Pembentukan senyawa kompleks quersetin-AlCl <sub>3</sub> .....	32
4.4 Total flavonoid ekstrak daun krangean .....	33
4.5 Struktur 3',4'-dihidroksiflavon .....	34
4.6 Nilai IC <sub>50</sub> peredaman radikal DPPH ekstrak daun krangean .....	35

4.7 %Peredaman radikal anion superoksida oleh ekstrak daun krangean.....	36
4.8 Struktur kuersetin (R=H) atau struktur rutin [(R=C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> )O(C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> )] .....	37
4.9 %Penghambatan ekstrak daun krangean terhadap lipase pankreas.....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4.1 Validasi Tanaman Krangean .....	48
4.2 Kadar Air Krangean .....	49
4.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak .....	49
4.4 Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Total Fenolik dan Flavonoid .....	50
4.5 Perhitungan Analisa Total Fenolik .....	50
4.6 Perhitungan Analisa Total Flavonoid .....	52
4.7 Perhitungan Analisa Peredaman Radikal DPPH.....	53
4.8 Perhitungan %Peredaman Anion Superokksida.....	57
4.9 Perhitungan Penghambatan Lipase Pankreas.....	57
4.10 Pembuatan Larutan-larutan Uji .....	58

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki beraneka ragam tumbuhan obat didunia. Keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia menempati peringkat tertinggi kedua setelah Brazil. Di Indonesia dapat dijumpai 30.000 jenis tumbuhan yang ada didunia dan yang sudah terdaftar sebagai tanaman obat berjumlah 283 jenis (Badan POM, 2010). Salah satu tanaman obat yang sudah terdaftar yaitu Krangean (*Litsea cubeba* Pers.).

Krangean (*Litsea cubeba* Pers) populasinya tersebar di Indonesia, salah satunya di Taman Nasional Meru Betiri (TNMB). Kawasan Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) hingga saat ini memiliki jumlah flora yang telah teridentifikasi sebanyak 518 jenis. Sebanyak 239 jenis merupakan tanaman obat, salah satunya yaitu kranglean. Kranglean digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (Balai Taman Nasional Meru Betiri, 2016).

Kranglean (*Litsea cubeba* Pers) adalah salah satu dari jenis pepohonan hutan. Kranglean memiliki nama daerah antara lain kilemo (Sunda), kranglean (Jawa), antarasa (Batak Toba), apokayan (Malinau, Kalimantan Timur). Kranglean digunakan untuk mengobati gigitan serangga, penawar bisa dan untuk meningkatkan libido pada pria. Bagian yang biasa digunakan sebagai obat yaitu kulit batang, buah dan daun. Marina dkk (2015) melakukan uji fitokimia terhadap daun kranglean. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya antara lain alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan steroid. Penelitian yang dilakukan oleh Kristijanto dkk (2012) menunjukkan bahwa pada kulit batang kranglean mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti minyak atsiri, sterol, triterpen, alkaloid, kumarin, flavonoid, aglikon, tanin, polifenol dan saponin. Senyawa golongan fenolik seperti flavonoid, polifenol, kumarin dapat digunakan sebagai antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menghambat oksidasi dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron ke radikal bebas (Suhartono *et al*, 2002). Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan sintetik dan alami.

Antioksidan sintetik seperti BHT (butil hidroksi toluen), TBHQ (tert-butil hidrokuinon), BHA (butil hidroksi anisol) dan PG (propil galat) berpotensi sebagai zat karsinogen jika dikonsumsi secara terus menerus (Amarowicz *et al*, 2000). Akibat sifat antioksidan sintetik yang karsinogenik tersebut, maka penggunaan antioksidan yang alami mengalami peningkatan (Andarwulan dkk, 1996).

Antioksidan memiliki sifat menetralkan radikal bebas penyebab beberapa penyakit, salah satunya penyakit hiperlipidemia. Hiperlipidemia dapat diobati dengan cara menghambat penyerapan lemak melalui penghambatan aktivitas enzim lipase pankreas yang mana sebagai sumber utama kelebihan kalori (Fitriani, 2009). Menurut Shin *et al* (2003), lipase pankreas adalah enzim yang berperan untuk menguraikan lemak yang ada pada usus halus. Lipase pankreas akan menghidrolisis trigliserida yang terkandung dalam makanan dalam usus halus menjadi asam lemak. Peningkatan aktivitas enzim lipase pankreas akan menyebabkan penyerapan asam lemak meningkat pula yang mana akan menyebabkan penimbunan asam lemak dalam darah.

Dalam penelitian ini ingin menjawab apakah senyawa metabolit sekunder khususnya fenolik yang terkandung dalam daun tanaman krangean (*Litsea cubeba* Pers) memiliki aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia. Ekstraksi daun krangean dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat polaritas pelarut (n-heksana, etil asetat, dan metanol). Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari ekstrak yang dapat meredam radikal bebas, sedangkan aktivitas antihiperlipidemia dapat dilihat dari kemampuan ekstrak dalam menghambat kerja lipase pankreas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh polaritas pelarut n-Heksana, etil asetat, dan metanol terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan?
2. Bagaimana aktivitas ekstrak daun krangean sebagai antioksidan?
3. Bagaimana aktivitas ekstrak daun krangean sebagai antihiperlipidemia?

### **1.3 Batasan Masalah**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun tanaman krangean (*Litsea cubeba* Pers) yang diambil dan divalidasi oleh Taman Nasional Meru Betiri (TNMB).
2. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat
3. Pelarut yang digunakan n-Heksana, Etil Asetat, dan Metanol.

### **1.4 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh polaritas pelarut n-Heksana, Etil Asetat, dan Metanol terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan.
2. Mengetahui aktivitas daun krangean sebagai antioksidan.
3. Mengetahui aktivitas daun krangean sebagai antihiperlipidemia.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi bagi peneliti dan masyarakat terhadap aktivitas ekstrak daun krangean sebagai antioksidan dan antihiperlipidemia.
2. Memberikan informasi kemampuan penghambatan ekstrak daun krangean terhadap lipase pankreas.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Taman Nasional Meru Betiri

Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) termasuk dalam kawasan yang terletak di dua kabupaten, yaitu kabupaten Banyuwangi dan Jember dengan luas wilayah 58.000 Ha. Kawasan ini meliputi perairan dengan luas 845 Ha dan daratan dengan luas 57.155 Ha. Surat Keputusan Menteri Kehutanan Nomor: 277/Kpts-VI/1997 tanggal 23 Mei 1997 menyebutkan bahwa dari total wilayah 58.000 Ha TNMB yang berada pada wilayah kabupaten Banyuwangi 20.415 Ha dan di Jember 37.585 Ha. Jumlah flora yang sudah terdaftar sampai saat ini sebanyak 518 jenis dan 239 dari jenis tersebut adalah bahan baku obat tradisional seperti Krangean (Balai Taman Nasional Meru Betiri, 2016).

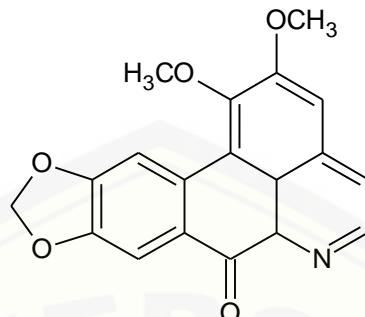
### 2.2 Fitokimia Tanaman Dari Genus *Litsea*

Uji fitokimia pada genus *Litsea* telah banyak yang dipublikasikan. Agrawal *et al* (2011) meninjau senyawa bioaktif yang diisolasi dari genus *Litsea*. 200 lebih senyawa bioaktif yang dilaporkan, meliputi flavonoid, lignan, amida, asam lemak, steroid, alkaloid, terpenoid, butanolida, butanolakton, dan megastigman. Kong *et al* (2015) menyebutkan dalam penelitiannya bahwa flavonoid dan terpenoid terutama monoterpen dan seskuiterpen merupakan senyawa yang paling banyak pada genus *Litsea*. Jenis – jenis senyawa bioaktif pada genus *Litsea* antara lain:

#### 2.2.1 Alkaloid

Sebanyak 30 jenis alkaloid telah diisolasi dari 20 spesies dari genus *Litsea* meliputi *aporphine*, *proaporphine*, *1-benzylisoquinoline*, morfin, *phenantrene*, dan *dibenzopyrrocoline*. Alkaloid banyak terkandung dalam *L. cubea* dan sampai sekarang sudah 23 jenis alkaloid yang telah diisolasi dari spesies ini. Alkaloid jenis *aporphine* merupakan jenis alkaloid yang banyak ditemukan pada genus *Litsea*. Alkaloid jenis *aporphine* yang telah ditemukan yaitu *oxonan-tenine*, *L. glutinosa*, *L. rotundifolia*, *L. rotundifolia* var. *oblongifolia* dan *L. euosma*.

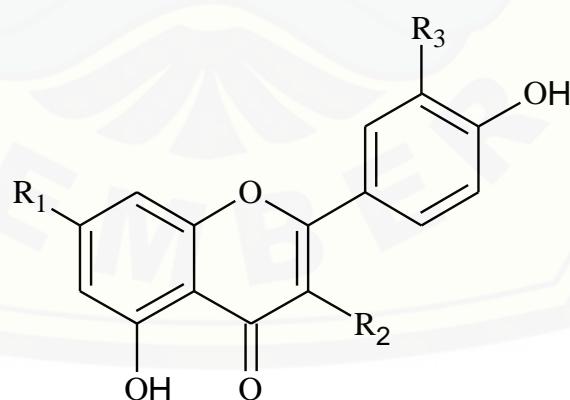
dilaporkan menjadi sumber alkaloid (Xiao et al., 2006; Yan *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2005)



Gambar 2.1 Struktur *oxonan-tenine*

## 2.2.2 Flavonoid

Flavonoid banyak terkandung dalam genus *Litsea*. Sebanyak 26 flavonoid telah diisolasi dari 20 spesies *Litsea*. Flavonoid banyak ditemukan pada tanaman *L.coreana*, *L.glutinosa* dan *L.cubea*. Flavonoid yang telah ditemukan pada genus *Litsea* kemudian dikelompokkan menjadi flavon, flavonol, flavonon, anthocyanidins, kalkon, dan flavan-3-ols. Flavon, flavonon, dan flavonol dalam bentuk glikosida, terdiri dari glukosa, galaktosa dan rhamnose (Kong, 2015). Flavonoid memiliki berbagai aktivitas, misalnya flavonoid dari *L.coreana* menunjukkan aktivitas anti-peradangan, antioksidan dan hepatoprotektif (Chen *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 2006).

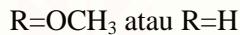
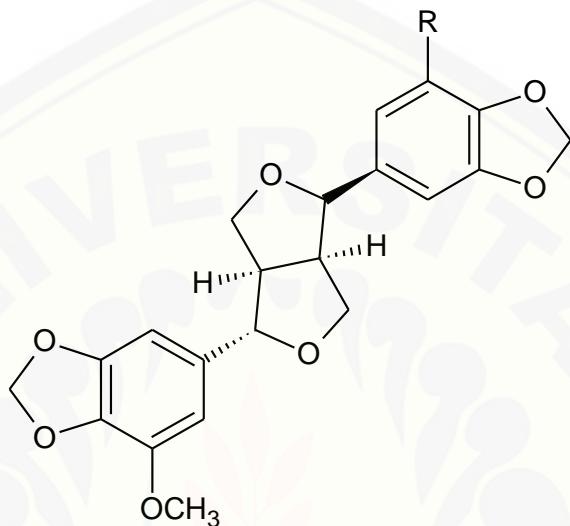


1.  $R_1=R_2=OH, R_3=H$
2.  $R_1=OH, R_2=GalO, R_3=H$
3.  $R_1=OH, R_2=GlcO, R_3=H$
4.  $R_1=R_3=OH, R_2=GalO$
5.  $R_1=R_3=OH, R_2=GlcO$

Gambar 2.2 Struktur flavonoid

### 2.2.3 Lignan

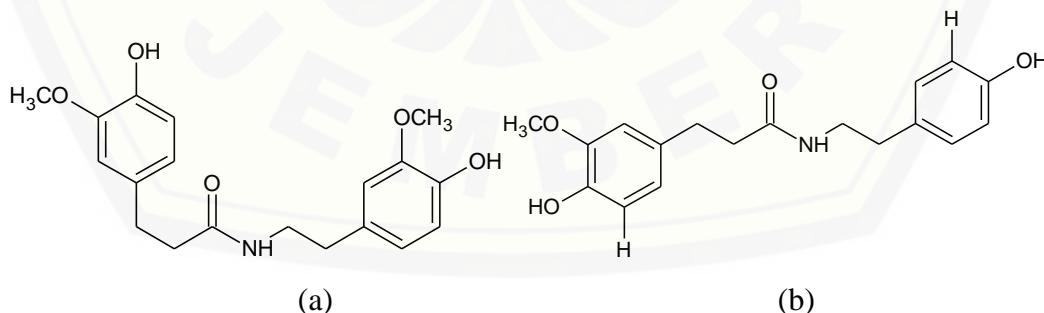
Lignan telah ditemukan pada empat spesies *Litsea*. Total lignan yang telah ditemukan sebanyak 20 jenis. Jenis *Litsea* yang mengandung lignan antara lain *L.cubeba*, *L.euosma*, *L.glutinosa* dan *L.verticillata*. *Epiexcelsin* dan 5-*demethoxyepiexcelsin* telah diisolasi dari *L.verticillata* (Hoang et al., 2002).



Gambar 2.3 Struktur *Epiexcelsin* ( $R=OCH_3$ ) dan 5-*demethoxyepiexcelsin* ( $R=H$ )

### 2.2.4 Amida

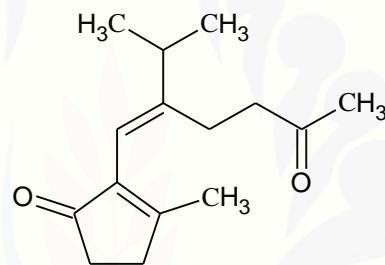
Amida hanya dapat ditemukan pada *Litsea auriculata* dan *Litsea cubeba* (Kong, 2015). Zhu dan Yang (2007) melaporkan ada dua jenis amida yang ada pada *L.cubeba*, yaitu *N-feruloyltyramine* dan *cis-N-feruloyl-3-methoxytyramine*.



Gambar 2.4 Struktur *cis-N-feruloyl-3-methoxytyramine* (a) dan *N-feruloyltyramine* (b)

## 2.2.5 Terpenoid

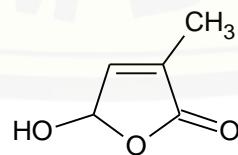
Terpenoid yang telah dilaporkan pada genus *Litsea* ada sekitar 60 jenis, meliputi monoterpen dan seskuiterpen yang diisolasi dari 20 jenis *Litsea*. Monoterpen banyak ditemukan pada minyak atsiri genus *Litsea*. Sebanyak 20 monoterpen telah diisolasi dari minyak atsiri *L.cubeba* karena memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antijamur, antiastmatik, anti-anafilaksis dan juga fungsi pada sistem saraf pusat (Chen *et al.*, 2012; Chen, 2005; Gogoi *et al.*, 1997; Lu *et al.*, 1988; Qian *et al.*, 1980). *Litsea verticillata* merupakan spesies dari genus *Litsea* yang memiliki jumlah seskuiterpen paling banyak. Sebanyak 31 seskuiterpen telah dilaporkan dari isolasi *Litsea verticillata* (Hoang *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2005).



Gambar 2.5 Struktur seskuiterpen

## 2.2.6 Butanolida dan butanolakton

Sekitar 15 butanolida dan butanolakton telah dilaporkan pada 3 spesies *Litsea*, yaitu *Litsea glutinosa* (Agrawal *et al.*, 2013), *Litsea rotundifolia var. Oblongifolia* (Zhao *et al.*, 2005) dan *Litsea verticillata* (Zhang *et al.*, 2005). Isolasi dari daun dan ranting *Litsea verticillata* menghasilkan butanolida, antara lain *Hydroxydihydrobovolide*, *3-epilitsenolide D2*, *4-hidroksi-2-methylbut-2-enolide*, *litseabutenolide* (Zhang *et al.*, 2005).

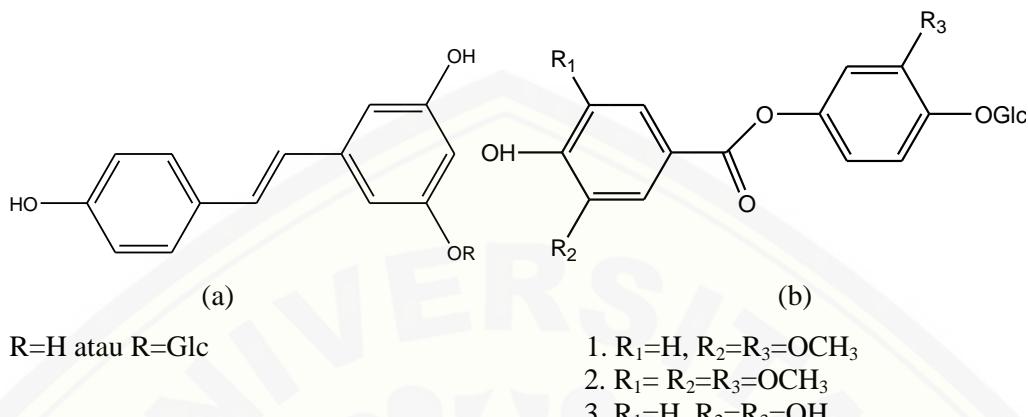


Gambar 2.6 Struktur 4-hidroksi-2-methylbut-2-enolide

## 2.2.7 Senyawa Lain

Senyawa lain yang dapat ditemukan pada genus *Litsea* selain yang telah disebutkan sebelumnya antara lain fenil ester (Agrawal *et al.*, 2013; Xiao *et al.*,

2006), stilben (Sun and Guo, 2006), megastigaman (Wang et al., 2011), dan lain-lain. Polisakarida yang larut dalam air, dan juga arabinoksilan yang diisolasi dari daun hijau *L. glutinosa* (Das et al., 2013).



Gambar 2.7 Struktur stilben (a) dan fenil ester (b)

### 2.3 Klasifikasi Tanaman Krangean

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super Divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliopsida
Kelas	:	Magnoliopsida
Sub Kelas	:	Magnoliidae
Ordo	:	Laurales
Famili	:	Lauraceae
Genus	:	<i>Litsea</i>
Spesies	:	<i>Litsea cubeba</i> Pers.

Krangean merupakan tanaman yang dapat mencapai tinggi 5-10 meter, pada bagian ujung cabang berambut tebal dan pendek serta berwarna coklat terutama yang masih muda, sedangkan yang berusia tua gundul dan berwarna hitam. Tipe daun tunggal helaiannya, memiliki bintik-bintik kelenjar yang dapat ditembus oleh cahaya dan ujungnya runcing, permukaan atas daun mengkilat, pertulangan daun lateral. Perbungaan berupa bunga tandan, bunga dilindungi oleh daun pelindung, bunga jantan dan betinanya terpisah. Buah bulat dan berwarna hitam (Baker, 1997). Uji fitokimia yang dilakukan oleh Kristijanto *et al* (2012) pada kulit batang krangean menunjukkan kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada didalamnya. Hasil yang diperoleh senyawa minyak



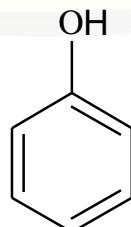
Gambar 2.8 Krangean

atsiri hanya terkandung pada fraksi heksana. Senyawa golongan sterol, triterpen, kumarin dan alkaloid terkandung pada semua fraksi. Senyawa flavonoid dan aglikon terdapat pada fraksi kloroform, etil asetat dan air. Tanin dan polifenol terdapat dalam fraksi etil asetat dan air, sedangkan saponin hanya teridentifikasi pada fraksi air. Senyawa-senyawa tersebut terkandung semua dalam fraksi metanol hal ini karena metanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang dapat melarutkan banyak persenyawaan dari yang non polar sampai polar. Uji fitokimia juga dilakukan oleh Saikia *et al* (2013) pada minyak atsiri buah dan daun *L.cubeba* (Pers). Senyawa-senyawa yang terkandung didalam buah dan daunnya antara lain golongan monoterpen, sesquiterpen, dan diterpen.

## 2.4 Senyawa Fenolik sebagai Antioksidan

### 2.4.1 Klasifikasi Senyawa Fenolik

Fenolik adalah kelompok besar dari salah satu senyawa metabolit sekunder. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih gugus hidroksil yang menyambung pada cincin aromatik (Vermerris and Nicholson, 2006). Bentuk sederhana dari senyawa fenolik adalah fenol yang mana hanya memiliki satu gugus hidroksil yang menempel.



Gambar 2.9 Fenol

Variasi gugus yang banyak tersubstitusi pada struktur utama fenol mengakibatkan golongan fenolik memiliki banyak anggota. Jenis dari senyawa fenolik ini jumlahnya lebih dari 8000 jenis, mulai dari yang paling sederhana dengan berat molekul kecil sampai senyawa kompleks dengan berat molekul lebih dari 30000 Da (Marinova *et al*, 2005). Senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman dalam bentuk fenol sederhana maupun folifenol tergantung dari jumlah unit fenol dalam suatu molekul. Senyawa fenolik yang terkandung didalam tanaman yaitu golongan fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, stilben, flavonoid, lignin, lignan, dan tanin (Soto-Vaca *et al*, 2012). Senyawa fenolik yang telah teridentifikasi hampir keseluruhannya memiliki aktivitas terhadap antioksidan (penangkal radikal bebas). Jenis-jenis dari senyawa fenolik yang beraneka ragam membuat para ilmuan mengklasifikasikannya berdasarkan jumlah atom karbon pada molekulnya. Klasifikasi senyawa fenolik dilakukan oleh Harbone dan Simmonds (1964) pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolik

Struktur	Kelas
C <sub>6</sub>	Fenolik sederhana
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Asam fenolat dan sejenisnya
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Asam fenilasetat dan asetofenon
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Fenilpropanoid dan kumarin
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> ;C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Xanton, benzofenon, stilbenoid
C <sub>10</sub> , C <sub>14</sub>	Kuinon
C <sub>15</sub> , C <sub>30</sub>	Flavonoid
C <sub>18</sub>	Betasianin
Dimer, Oligomer, Polimer	Lignan, neolignan, lignin, tanin

#### 2.4.2 Antioksidan

Antioksidan atau penangkal radikal bebas merupakan senyawa yang dapat menghambat proses terjadinya oksidasi terhadap suatu molekul dengan mengurangi stres oksidatif peredaman radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Antioksidan bekerja dengan cara

mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsih, 2007). Antioksidan bekerja melalui 3 mekanisme yaitu mencegah pembentukan radikal bebas baru, menginaktivasi radikal yang telah terbentuk (pemutusan rantai reaksi), dan memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas. Rusaknya sistem imun antioksidan didalam tubuh diakibatkan oleh meningkatnya produksi spesies oksigen reaktif (SOR). SOR yang terbentuk meliputi hidrogen peroksida, anion superokksida, radikal hidroksil yang mana akan menyebabkan kerusakan pada lipid, enzim, DNA maupun protein (Ames *et al.*, 1993).

Senyawa fenolik (POH) mencegah terjadinya reaksi oksidasi lipid dan molekul-molekul lain dengan mendonorkan proton pada spesies radikal ( $R\cdot$ ):



Radikal fenoksi ( $PO\cdot$ ) yang terbentuk memiliki kondisi yang relatif stabil, hal ini disebabkan oleh efek resonansi yang mana radikal tersebut tidak mudah untuk diinisiasi lagi. Radikal fenoksi ini juga dapat bertindak sebagai terminator pada reaksi propagasi radikal dengan cara bereaksi dengan radikal bebas lainnya:



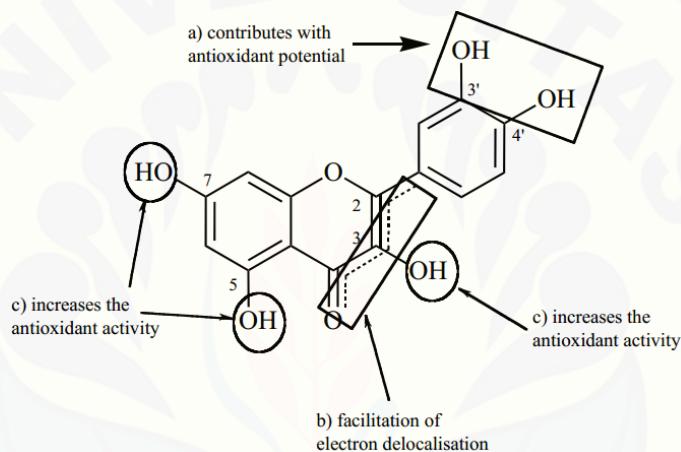
Hubungan antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidannya antara lain:

- a) Asam fenolat dan bentuk esternya: jumlah gugus hidroksil dari asam fenolat ini yang akan mempengaruhi kemampuan untuk mereduksi radikal bebas (Dziedzic & Hudson, 1983). Asam hidroksinamat dibandingkan dengan asam hidroksibenzoat memiliki keefektifan dalam mengikat radikal bebas, hal ini disebabkan efek penstabilan *aryloxy-radical* dengan resonansi gugus  $-CH=CH-COOH$  yang ada pada cincin fenil dan juga disebabkan oleh halangan sterik yang lebih kecil daripada gugus benzoat (Rice-Evans *et al.*, 1996).
- b) Menurut Bors & Michel (2002), faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan pada flavonoid yaitu:

- (1) Struktur orto-dihidroksi cincin B memiliki kestabilan tinggi dalam bentuk radikal, merupakan pendonor elektron yang baik, dan terjadi delokalisasi elektron.
- (2) Ikatan rangkap dua atom C2-C3 gugus 4-okso pada cincin C berperan penting terhadap delokalisasi elektron pada cincin B.
- (3) Gugus hidrosil atom C5-C7 cincin A dan C3 pada cincin C memiliki potensi besar terhadap peredaman radikal.

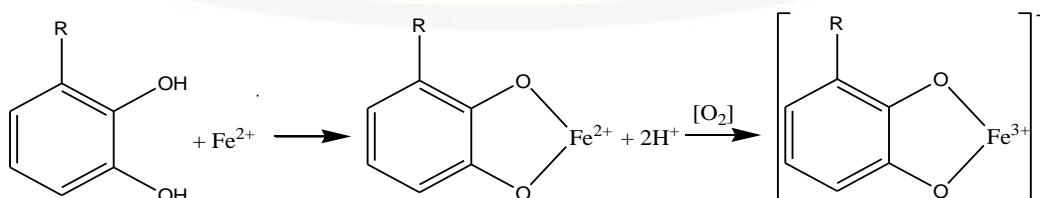
Senyawa flavonoid yang memiliki ketiga kriteria tersebut adalah kuersetin.

Gugus-gugus fungsi pada kuersetin dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.10 Kegunaan gugus fungsi pada kuersetin (Bubols *et al.*, 2013)

Senyawa fenolik juga dapat mencegah terjadinya radikal bebas dengan cara mengikat logam-logam transisi seperti Cu dan Fe. Logam-logam tersebut yang merangsang terjadinya radikal bebas. Gugus katekol pada senyawa fenolik dapat membentuk kompleks dengan  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{2+}$  (Perron & Brumaghim, 2009). Kemampuan mengikat logam senyawa fenolik dapat dilihat pada Gambar 2.4 (Khokar & Aperten, 2003).



Gambar 2.11 Reaksi gugus katekol terhadap pengikatan logam

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang larut dari komponen yang tidak larut oleh suatu campuran dengan pelarut yang sesuai (Leniger & Beverloo, 1975). Ekstraksi dipengaruhi oleh waktu, temperatur, dan pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi didasarkan pada beberapa faktor seperti tujuan ekstraksi, sifat komponen yang diekstraksi, jumlah yang diekstraksi dan sifat pelarutnya. Metode-metode umum yang biasa digunakan adalah ekstraksi menggunakan pelarut, pengepresan mekanik, distilasi, sublimasi, dan *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), namun metode yang sering digunakan adalah ekstraksi dengan pelarut dan distilasi (Hougtom & Raman, 1998). Penggunaan ekstraksi untuk mengekstrak senyawa aktif pada simplisia, pelarut harus mengalami difusi dan senyawa aktif yang diinginkan harus cukup larut dalam pelarut. Apabila komponen yang akan diekstrak tidak diketahui tingkat kepolarannya maka digunakan metode ekstraksi bertingkat dengan menggunakan beberapa pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda dan ekstraksi dilakukan berulang-ulang agar semua senyawa yang terkandung dapat terekstrak secara optimal.

Menurut Khoddami *et al* (2013), senyawa fenolik yang begitu beragam membuat kesulitan jika menggunakan satu jenis metode ekstraksi, karena senyawa fenolik ini dapat membentuk kompleks dengan protein, karbohidrat dan senyawa-senyawa lainnya yang menyebabkan sulitnya untuk diekstraksi sehingga perlu dilakukan *pretreatment*. Penggilingan simplisia dan penghilangan lemak adalah *pretreatment* yang baik untuk memperoleh ekstrak fenolik. Menurut Gracia-Salas *et al* (2010), pelarut-pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi senyawa fenolik dengan berbagai tingkat kepolaran antara lain aseton, etil asetat, air, alkohol dan campuran dari pelarut-pelarut. Ekstraksi menggunakan pelarut ini ada dua cara, yaitu dengan cara panas dan cara dingin.

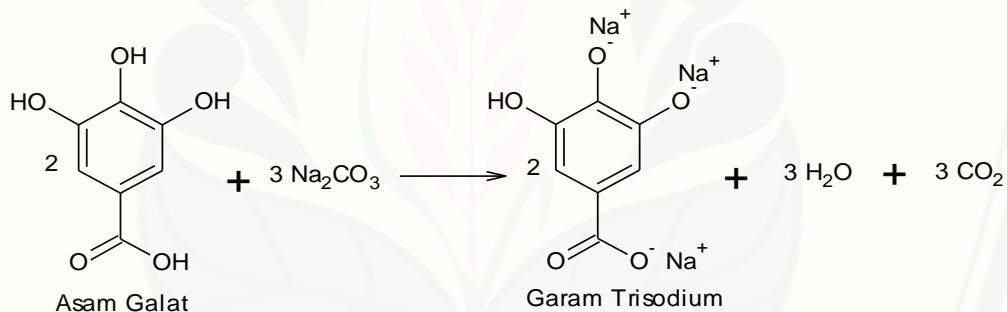
Menurut Biesaga dan Pyrzynska (2013), senyawa fenolik akan mengalami degradasi pada suhu tinggi karena reaksi yang tidak diinginkan seperti oksidasi enzimatik. Pemilihan metode ekstraksi dengan temperatur normal (cara dingin) merupakan cara yang sesuai. Metode ekstraksi dengan cara dingin salah

satunya adalah maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi tradisional yang mudah untuk diterapkan (ICS-UNIDO, 2008). Simplisia diekstraksi dengan pelarut dan diaduk secara terus-menerus selama 72 jam pada suhu kamar. Campuran kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu.

## 2.6 Analisis Antioksidan

### 2.6.1 Analisis Total Fenolik

Analisis total fenolik digunakan untuk antioksidan dan antihiperlipidemia berdasarkan jumlah total fenoliknya. Standar yang digunakan sebagai senyawa fenolik adalah asam galat karena jika direaksikan dengan natrium karbonat akan menghasilkan garam trisodium. Garam trisodium merupakan ion fenolat dari asam galat (Rayner & Raynel, 2011). Reaksi pembentukan garam trisodium dapat dilihat pada Gambar 2.12



Gambar 2.12 Reaksi asam galat dengan natrium karbonat

Reagen Folin-Ciocalteu merupakan reagen yang digunakan dalam analisis senyawa fenolik. Reagen ini berwarna kuning dan dibuat dari campuran fosfomolibdat dan fosfotungstat dengan dua komposisi yang berbeda (Swamy *et al.*, 2014), yaitu:

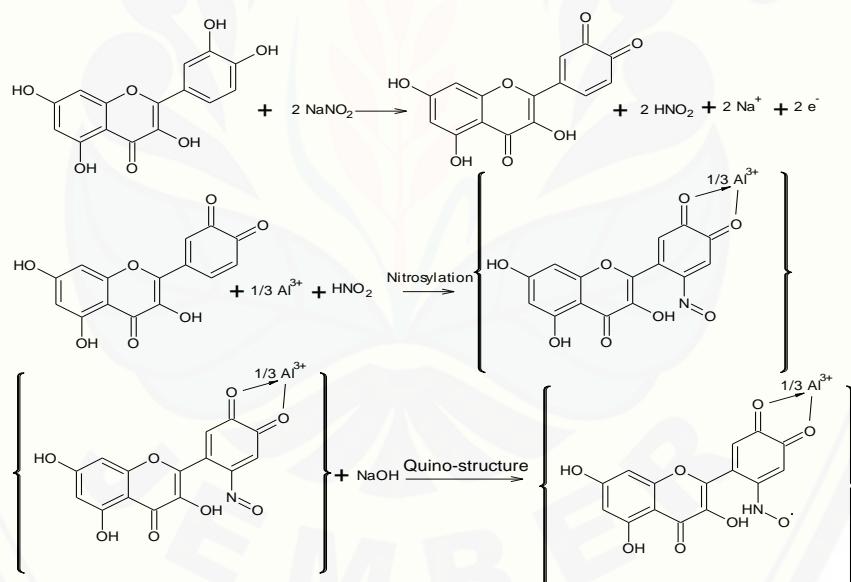


Molibdat dan tungstat akan direduksi satu atau lebih atom oksigennya oleh ion fenolat yang telah terbentuk sehingga akan menjadi senyawa baru berwarna biru. Panjang gelombang maksimum dari warna biru adalah 750 nm.

## 2.6.2 Analisis Total Flavonoid

Standar yang digunakan pada analisis total flavonoid yaitu kuersetin. Kuersetin memiliki gugus katekol (1,2-dihidroksibenzena) yang mendasari reaksi logam Alumunium dengan gugus katekol yang membentuk kompleks berwarna.

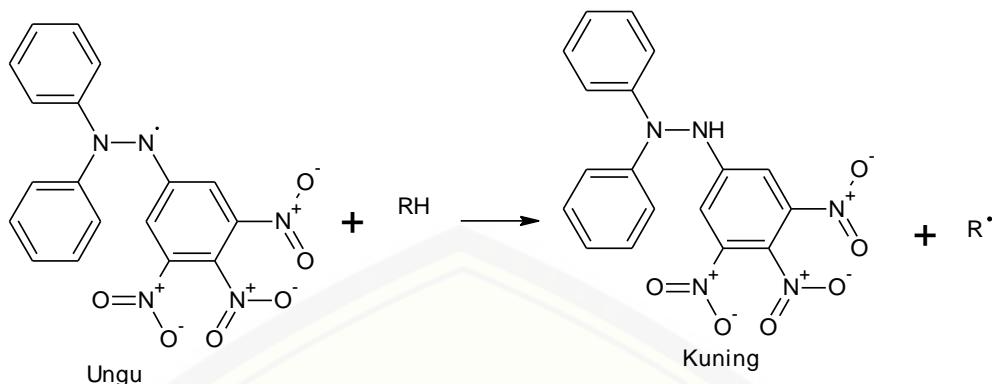
Cincin B kuersetin yang mengandung gugus katekol akan dioksidasi oleh natrium nitrit menjadi keton, sedangkan natrium nitrit itu sendiri akan tereduksi menjadi asam nitrit. Keton yang terbentuk akan memberikan warna kuning pekat. Keton yang telah terbentuk dengan kation alumunium ( $\text{Al}^{3+}$ ) dari  $\text{AlCl}_3$  akan membentuk kompleks dan akan terjadi reaksi nitrosilasi oleh asam nitrit. Senyawa yang terbentuk selanjutnya direduksi menggunakan natrium hidroksida dan menghasilkan quino (Zhu *et al.*, 2009). Panjang gelombang maksimum warna kompleks quino dari kuersetin yaitu 415 nm. Rangkaian pembentukan quino dapat dilihat pada Gambar 2.13



Gambar 2.13 Reaksi pembentukan quino dari kuersetin

## 2.6.3 Analisis Peredaman Radikal DPPH

Analisis peredaman radikal DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 515 nm (Soler-Rivas *et al.*, 2000). Radikal DPPH akan direduksi oleh senyawa fenolik menjadi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine* dan menghasilkan warna kuning. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14 Reaksi radikal DPPH dengan senyawa antioksidan

Reaksi antara DPPH dengan senyawa fenolik tergantung pada konsentrasi dan kereaktifan dari senyawa fenoliknya. Apabila konsentrasi atau kereaktifan senyawa fenolik tinggi maka radikal DPPH yang tereduksi akan semakin besar sehingga akan menurunkan nilai absorbansinya lebih besar. Hasil tersebut digunakan untuk menentukan persen peredaman radikal DPPH dari beberapa konsentrasi menggunakan  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi senyawa fenolik yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Persen peredaman radikal DPPH dapat dihitung dengan persamaan berikut (Hyun *et al.*, 2013):

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[ \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] x 100\% \quad (\text{Persamaan 2.1})$$

## Keterangan:

$A_0$  = absorbansi kontrol

$A_1$  = absorbansi sampel.

Penghitungan IC<sub>50</sub> radikal DPPH menggunakan persamaan linear hasil dari pengeplotan antara persen peredaman dan log konsentrasinya. Persamaan untuk menghitung IC<sub>50</sub> yaitu:

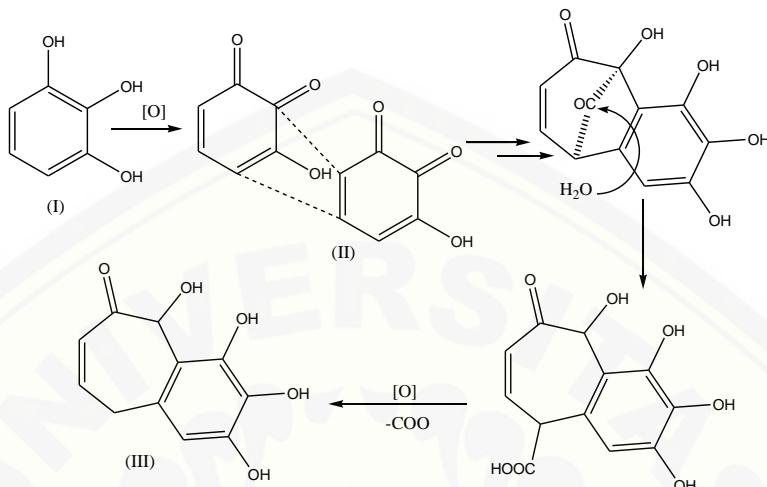
$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (\text{Persamaan 2.2})$$

Nilai dari a dan b dihasilkan dari persamaan  $y = bx + a$ .

#### 2.6.4 Analisis Peredaman Radikal Anion Superoksida

Analisis peredaman anion superoksida didasarkan pada reaksi autooksidasi pirogalol yang diamati menggunakan spektrofotometer. Pirogalol yang awalnya

tidak berwarna ketika mengalami oksidasi akan berubah warna menjadi orange. Gambar 2.15 menunjukkan bahwa pirogalol yang mengalami reaksi autooksidasi akan menghasilkan warna orange (Tauber, 1953).



Gambar 2.15 Reaksi autooksidasi pirogalol

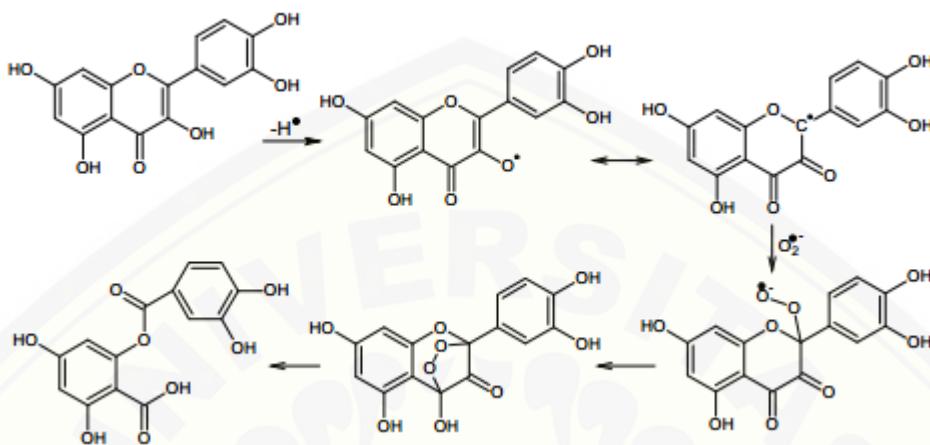
Senyawa (I) merupakan pirogalol yang tidak berwarna. Keadaan basa menyebabkan pirogalol mengalami autooksidasi menghasilkan radikal superoksida dan ortoquinon (senyawa II). Ortoquinon selanjutnya akan dioksidasi oleh radikal anion superoksida menjadi purpurogallin (senyawa III). Purpurogallin ini memiliki panjang gelombang maksimum 320 nm. Reaksi autooksidasi akan terus terjadi sampai ortoquinon dan pirogalol telah habis bereaksi. *Slope* yang dihasilkan dari reaksi autooksidasi pirogalol menunjukkan laju dari pembentukan purpurogallin. Laju pembentukan purpurogallin berbanding lurus dengan konsentrasi radikal anion superoksida karena radikal ini yang mengoksidasi ortoquinon menjadi purpurogallin. Nilai persen peredaman radikal anion superoksida dihitung menggunakan Persamaan 2.3 (Li *et al.*, 2012).

$$\text{Persen peredaman radikal} = \left[ \frac{(S_0 - S_1)}{S_0} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 2.3})$$

$S_0$  adalah *slope* kontrol (tanpa sampel), sedangkan  $S_1$  merupakan *slope* sampel.

Keberadaan antioksidan antioksidan akan menurunkan laju pembentukan purpurogallin. Hal ini karena radikal anion superoksida akan bereaksi jika diberi senyawa antioksidan dan *slope* yang dihasilkan akan mengalami penurunan. Radikal anion superoksida akan bereaksi dengan antioksidan seperti golongan

fenolik. Mekanisme reaksi senyawa fenolik dengan radikal anion superokksida salah satunya yaitu reaksi antara kuersetin dengan radikal anion superokksida yang ditunjukkan pada Gambar 2.16



Gambar 2.16 Reaksi peredaman radikal anion superokksida oleh kuersetin (Nimse & Pal, 2005)

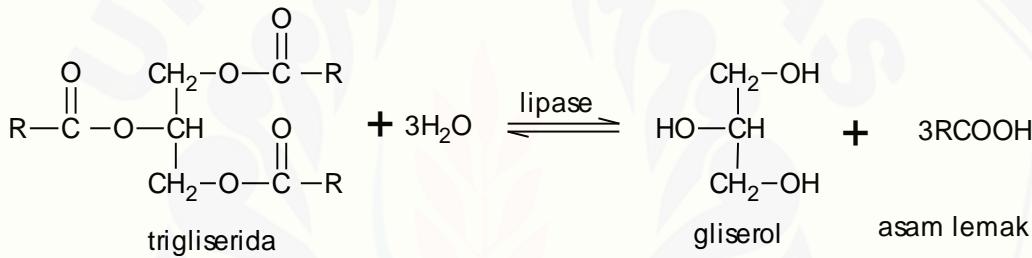
## 2.7 Hiperlipidemia

Hiperlipidemia merupakan kondisi kelebihan kadar asam lemak didalam darah. Hiperlipidemia dibagi menjadi dua antara lain hipertriasiglycerol dan hiperkolesterol (Samitra *et al*, 2013).

Menurut Rahardjo (2009), Hiperlipidemia digolongkan menjadi dua, yaitu:

- Hiperlipidemia primer yaitu hiperlipidemia karena terjadi kelainan genetik. Kelainan ini tidak ada keluhan atau gejala. Berdasarkan fenotip lipoproteinnya, ada beberapa tipe hiperlipidemia primer antara lain:
  - Monogenik:
    - Mutasi apolipoprotein
      - Defisiensi apoprotein C-II
      - Disbetaipoproteinemia
    - Mutasi reseptor (bersifat dominan)
      - Hiperkolesterolmia familial
    - Mutasi enzim (bersifat resesif)
      - Defisiensi lipoprotein lipase

- b) Defisiensi *lecitine-kolesterol asiltransferase* (LCAT)
- 2) Kemungkinan monogenik:
    - i. Hipertrigliseridemia
    - ii. Hiperlipoproteinemia multiple familial
  - 3) Sporadik atau poligenik
    - i. Hiperkolesterolemia
    - ii. Hipertrigliseridemia
  - b. Hiperlipidemia sekunder merupakan meningkatnya lipid dalam darah dikarenakan oleh suatu penyakit tertentu seperti diabetes miltus, penyakit hepar, gangguan tiroid, dan ginjal. Penyebab hiperlipidemia sekunder bisa juga dari obat-obatan seperti estrogen, gestagen,  $\beta$ -blocker dan diuretik.



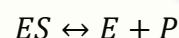
Gambar 2.17 Pemecahan triglycerida oleh lipase

## 2.8 Inhibitor Lipase pankreas

Lipase pankreas adalah salah satu enzim yang ada dalam tubuh manusia yang dihasilkan oleh jaringan pankreas. Peran dari enzim ini adalah mengurai menjadi asam lemak dan gliserol (Shin *et al.*, 2003). Jika aktivitas dari lipase pankreas mengalami peningkatan maka penyerapan asam lemak juga akan mengalami peningkatan. Peningkatan ini berbahaya jika terjadi terus-menerus tanpa ada penghambatan yang mana dapat menyebabkan kelebihan lemak dalam darah sehingga memicu penyakit obesitas, jantung akibat tersumbatnya aliran darah oleh asam lemak (Joshita *et al.*, 2000).

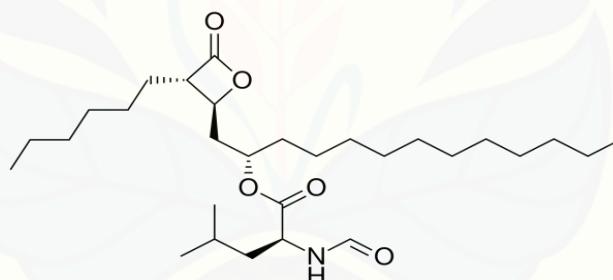
Penghambat atau inhibitor enzim merupakan suatu molekul yang dapat mengganggu proses terjadinya katalisis sehingga dapat memperlambat atau menghentikan suatu reaksi pada enzim. Mekanisme kerja dari inhibitor yaitu berkompetisi dengan substrat (lemak) untuk menempel pada sisi aktif enzim.

Inhibitor dapat berebut posisi dengan substrat karena strukturnya yang mirip dengan substrat. Apabila inhibitor telah berhasil menempati posisi aktif dari enzim maka substrat tidak dapat menempati sisi aktif tersebut yang mana reaksi enzimatis tidak dapat berlangsung. Mekanisme reaksi enzimatik dapat dilihat pada Gambar 2.18



Gambar 2.18 Reaksi enzim dengan substrat dan inhibitor (Lehninger, 1982)

Penghambatan lipase pankreas oleh inhibitor merupakan langkah awal untuk menghindari terjadinya penyakit seperti hiperlipidemia, hiperkolesterol dan sebagainya. Inhibitor sintetis lipase pankreas yang umum digunakan yaitu orlistat. Orlistat umumnya digunakan pada penderita hiperlipidemia, tetapi obat ini dilaporkan memiliki berbagai efek samping pada tubuh (Aschenbrenner and Samantha, 2009). Gambar 2.19 merupakan struktur dari orlistat.

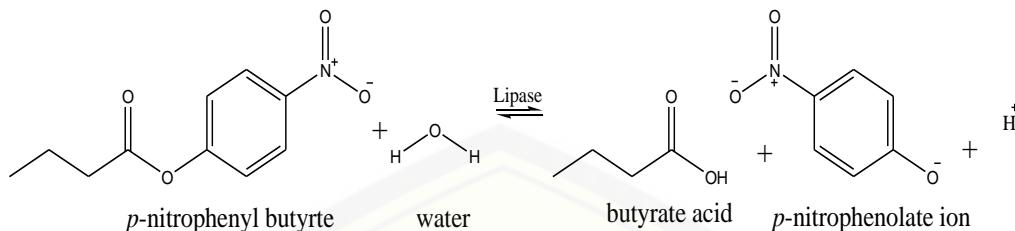


Gambar 2.19 Orlistat

Senyawa golongan fenolik dapat menghambat kerja enzim lipase dalam menghidrolisis lemak. Menurut Pradono *et al.*(2011) ada penghambatan kerja enzim lipase pankreas oleh senyawa flavonoid yang diperoleh dari daun asam jawa dan kunci pepet.

Penghambatan kerja enzim lipase pankreas dilihat dari produk (asam lemak) yang terbentuk. Jika produk yang terbentuk mengalami penurunan maka enzim telah mengalami penghambatan. Pliego *et al* (2015) menggunakan substrat *p-nitrophenyl butirat* (*p*-NPB) pada uji penghambatan lipase pankreas. Enzim lipase pangkreas akan menghidrolisis *p*-NPB menjadi asam butirat dan ion

nitrofenolat. Reaksi hidrolisis *p*-NPB oleh enzim lipase pangkreas ditunjukkan pada Gambar 2.20



Gambar 2. 20 Reaksi hidrolisis p-NPB

Ion *p*-nitrofenolat yang dihasilkan dapat diketahui menggunakan metode spektrofotometri. Penambahan aseton dilakukan untuk mengubah ion *p*-nitrofenolat menjadi ion *p*-nitrofenol. Aseton bertindak sebagai agen pereduksi yang mana akan menghasilkan warna kuning dengan panjang gelombang maksimumnya 415 nm. Absorbansi yang dihasilkan semakin tinggi menandakan banyaknya ion *p*-nitrofenolat yang terbentuk yang mana menunjukkan tingginya aktivitas dari lipase pankreas.

## 2.9 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur absorbansi larutan. Konsentrasi analit pada spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada penyerapan radiasi cahaya tampak maupun UV. Menurut Harvey (2000), persamaan Lambert – Beer digunakan untuk mengkonversikan absorbansi menjadi konsentrasi. Persamaannya yaitu:

$$A = \varepsilon bC \quad (\text{Persamaan 2.4})$$

A merupakan absorbansi analit,  $\varepsilon$  adalah absorptivitas molar ( $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ),  $b$  adalah ketebalan kuvet yang digunakan, C adalah konsentrasi (Molaritas). Spektrofotometer UV-Vis digunakan dalam menganalisis peredaman radikal DPPH dan juga produk hasil dari reaksi hidrolisis lipase pangkreas yang menghasilkan warna.

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April sampai Juni 2017 di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

### 3.2 Alat dan Bahan

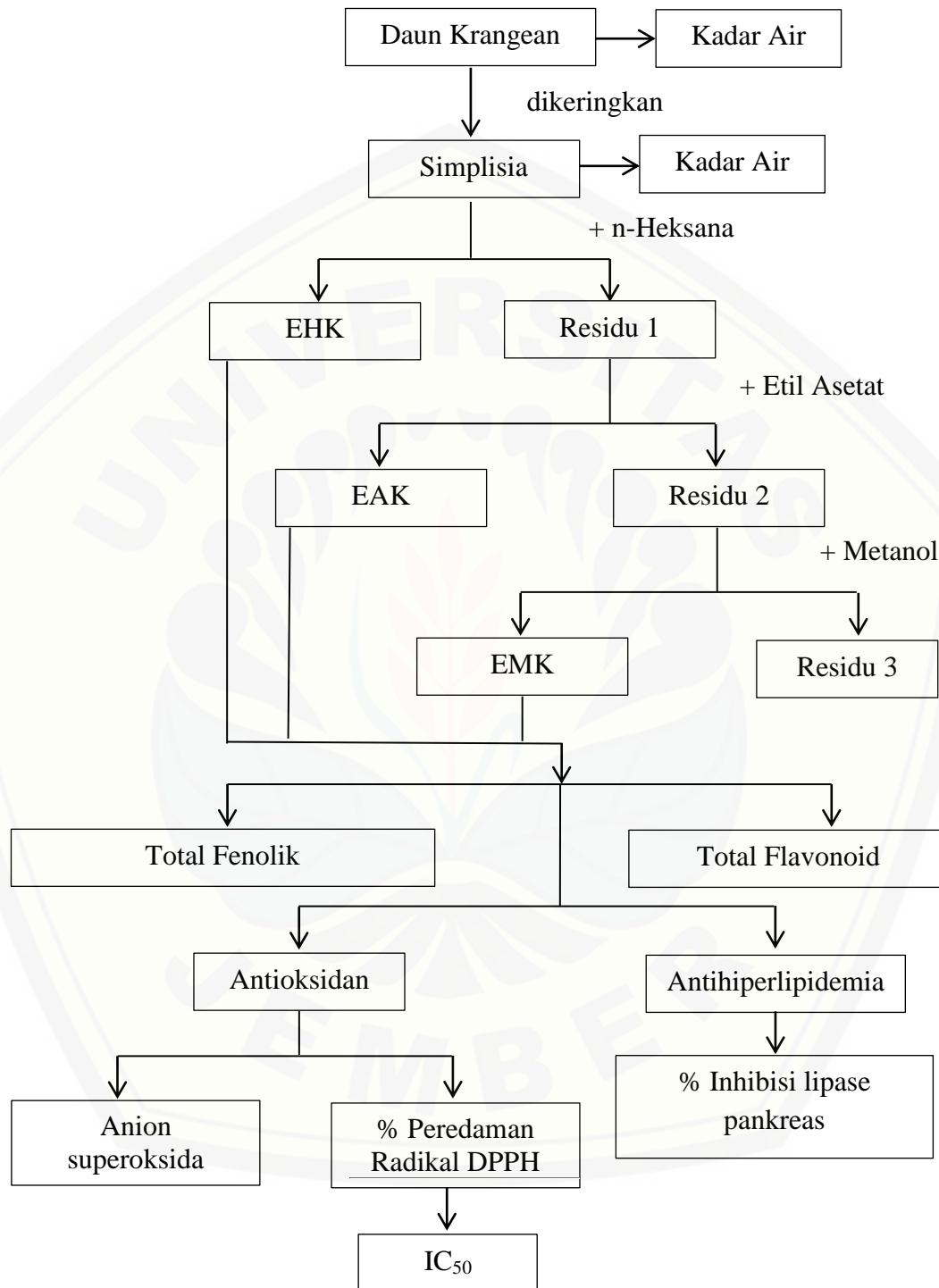
#### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas, bukan gelas, dan instrumen. Peralatan gelas yang digunakan antara lain gelas ukur 250 mL, tabung reaksi, erlenmeyer 500 mL, labu ukur 5, 10, dan 100 mL. Peralatan bukan gelas yang digunakan antara lain plastik sampel, kertas label, gunting, ayakan, kertas saring, aluminium foil, eppendorf, *96-well plates*. Peralatan instrumen meliputi Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), shaker, *microplate reader* dan *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), corong *buchner*, timbangan analitik (ES 2255M-DR), pipet mikro, inkubator (Stuart SBS 40)

#### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun Krangean (*Litsea cubeba*); heksana (Merck); etil asetat (Merck); metanol (Merck); akuades; reagen Folin-Ciocalteu (Merck); natrium karbonat (Merck); asam galat (Sigma-Aldrich); natrium nitrit (Merck); aluminium(III) klorida (Merck); natrium hidroksida (Merck); kuersetin (nacalai tasque); vitamin C (nacalai tasque); pirogallol (nacalai tasque); HCl (Merck); Tris-HCl; Besi(III) klorida (Merck); 1,1-diphenyl-2-pircyl-hydrazil (DPPH) (nacalai tasque); asam askorbat (nacalai tasque); p-NPB (sigma-Aldrich); natrium asetat (Merck), aseton (Merck); Triton X-100 (Merck), asam asetat (Merck); lipase porcine pancreas (Sigma-Aldrich), orlistat (Roche S. p. A. Milan).

### 3.3 Diagram Alir Penelitian



### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Penentuan Kadar Air

Sampel sebanyak  $\pm 1$  gram diletakkan pada wadah yang telah diketahui massanya. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu  $105^0\text{ C}$  selama 4-5 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kemudian dipanaskan kembali selama 1 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai massa sampel konstan. Persamaan penghitungannya yaitu:

$$\% \text{ air} = \frac{\text{massa awal sampel} - \text{massa akhir sampel}}{\text{massa awal sampel}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

#### 3.4.2 Pembuatan simplisia Daun Krangean

Daun Krangean yang telah divalidasi oleh Lembaga Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) dikeringanginkan pada suhu kamar untuk menghilangkan airnya. Daun yang sudah kering kemudian disortir untuk memisahkan antara yang kondisinya masih bagus dengan yang sudah membusuk. Daun yang sudah disortir kemudian dihaluskan dengan cara diblender sampai menjadi serbuk halus. Simplisia kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh untuk mendapatkan ukuran simplisia yang seragam.

#### 3.4.3 Ekstraksi Simplisia Daun Krangean

Ekstraksi dari simplisia daun Krangean menggunakan metode ekstraksi maserasi. Ekstraksi ini dilakukan bertingkat menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda yakni n-Heksana, etil asetat dan metanol. Ekstraksi dilakukan dari pelarut non polar terlebih dahulu (n-Heksana), kemudian semi polar (Etil asetat) dan terakhir polar (metanol). Simplisia sebanyak 50 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 mL kemudian ditambahkan pelarut n-Heksana dengan rasio perbandingan 1:5 (*w/v*). Kemudian sampel dikocok (*shaker*) dengan kecepatan 150 RPM selama 72 jam pada suhu kamar. Selanjutnya sampel yang diperoleh disaring menggunakan corong buchner dan menghasilkan filtrat serta residu 1. Filtrat dievaporasi menggunakan evaporator

vakum dengan suhu  $40^0$  C dan didapatkan ekstrak heksana krangean (EHK). Residu 1 dibiarkan sampai kering dan selanjutnya di maserasi dengan perlakuan sama seperti sebelumnya namun beda pelarut. Pelarut yang digunakan pada residu 1 adalah etil asetat. Kemudian didapatkan filtrat dan residu 2. Filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan evaporator vakum dan diperoleh ekstrak etil asetat krangean (EAK). Residu 2 dibiarkan sampai kering. Selanjutnya residu 2 diberi perlakuan sama seperti residu 1 namun dengan pelarut yang berbeda. Pelarut yang digunakan adalah metanol. Kemudian didapatkan filtrat dan residu 3. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan evaporator vakum dengan suhu  $40^0$  C dan dihasilkan ekstrak metanol krangean (EMK). Ekstrak EHK, EAK, dan EMK kemudian ditimbang untuk menghitung massa ekstrak yang dihasilkan. Persamaan yang digunakan untuk menghitung massa ekstrak sebagai berikut:

$$ME = (M_1 + E) - M_1 \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

Keterangan :

ME : Massa ekstrak

M<sub>1</sub> : Massa wadah

E : Ekstrak

#### 3.4.4 Analisis Total Fenolik Ekstrak Daun Krangean

Penentuan kandungan total fenolik yang ada pada ekstrak menggunakan metode yang telah dikemukakan oleh Bray and Thorpe (Taga et al, 1984) dan dihitung dengan standar asam galat. Ekstrak EHK, EAK, dan EMK sebanyak 50  $\mu\text{L}$  dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berbeda-beda. Kemudian ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% (*w/v*) sebanyak 1 mL pada masing-masing tabung reaksi dan diinkubasi selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  reagen Folin-Ciocalteu 50% (*v/v*) dan diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Total fenolik masing-masing ekstrak ditentukan dalam mg asam galat *equivalent* (AGE) per gram ekstrak dengan menggunakan persamaan dari kurva standar asam galat.

### 3.4.5 Analisis Total Flavonoid Ekstrak Daun Krangean

Penentuan kandungan flavonoid berdasarkan pada metode kolorimetri  $\text{Al}_2\text{Cl}_3$  yang dikemukakan oleh Chang *et al* (2002). Sampel sebanyak 150  $\mu\text{L}$  dilarutkan kedalam akuades sebanyak 400  $\mu\text{L}$ . Selanjutnya larutan dicampur dengan 30  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  5% (*w/v*) dan kemudian diinkubasi selama 5 menit. Kemudian ditambahkan dengan  $\text{AlCl}_3$  10% sebanyak 30  $\mu\text{L}$  dan diinkubasi selama 6 menit. Setelah diinkubasi, larutan ditambahkan  $\text{NaOH}$  1 M sebanyak 200  $\mu\text{L}$  dan akuades sebanyak 240  $\mu\text{L}$ . Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Standar yang digunakan adalah kuersetin dengan satuan mg *quercetin equivalent* (QE)/gr sampel.

### 3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan

#### a. Analisis Peredaman Radikal DPPH oleh Ekstrak Daun Krangean

Analisis peredaman radikal DPPH mengacu pada Soler-Rivas *et al.* (2000). Ekstrak sebanyak 200  $\mu\text{L}$  dengan 5 konsentrasi yang berbeda dan dimasukkan ekstrak pada 96-well plates. Kemudian ditambahkan sebanyak 100  $\mu\text{L}$  reagen DPPH 90  $\mu\text{M}$  (dalam metanol) dan diinkubasi selama 30 menit. Diukur absorbansi masing-masing larutan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 515 nm. Dihitung persentase peredaman radikal DPPH pada masing-masing ekstrak dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Persen peredaman} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.3})$$

Keterangan :

$A_0$  = absorbansi kontrol,  $A_1$  = absorbansi ekstrak.

Hasil dari perhitungan persen peredaman pada masing-masing ekstrak digunakan untuk membuat kurva linear. Kurva linear didapatkan dari memplotkan persen peredaman dan log konsentrasi. Persamaan yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai  $\text{IC}_{50}$  tiap ekstrak dengan persamaan 3.4.

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - c}{m} \quad (\text{Persamaan 3.4})$$

Nilai dari IC<sub>50</sub> menunjukkan konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menurunkan aktivitas DPPH sebanyak 50%. Standar yang digunakan adalah Vitamin C.

#### b. Analisis Peredaman Radikal Anion Supekoksida Ekstrak Daun Krangean

Metode peredaman radikal anion superoksida yaitu metode dari Tang *et al.*, (2010). Ekstrak daun krangean (HK, EAK, dan MK) diambil sebanyak 200 µL dan ditambahkan dengan buffer Tris-HCl 50 mM (pH 8,2) sebanyak 1,7 mL dalam tabung reaksi yang berbeda setiap fraksi. Selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian ditambahkan 100 µL pirogallol 10 mM (dalam HCl 10 mM). Dilakukan *time scanning* selama 4 menit dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 320 nm. Dihitung persen peredaman radikal anion superoksida dengan persamaan 3.5. Kontrol positif yang digunakan yaitu Vitamin C.

$$\text{Persen peredaman} = \left[ \frac{S_0 - S_1}{S_0} \right] \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.5})$$

#### 3.4.7 Aktivitas Penghambatan Lipase

Pengujian penghambatan aktivitas lipase mengacu pada Nakaku (2002). Langkah pertama pengujian ini yaitu pembuatan substrat. Substrat yang digunakan adalah  $\rho$ -NPB.  $\rho$ -NPB sebanyak 1,61 mg dimasukan ke dalam Erlenmeyer 25 mL dan ditambah triton X-100 4% sebanyak 1,0 mL. Setelah itu dipanaskan pada suhu 55-60 °C sampai larut. Selanjutnya ditambah 0,1 mL buffer asetat 1 M (pH 5,61) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit lalu ditambah dengan akuades sebanyak 0,8 mL.

Substrat yang telah terbentuk diambil sebanyak 300,0 µL dan ditambahkan 50,0 µL sampel. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit Kemudian ditambahkan 80,0 µL enzim lipase dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan aseton sebanyak 670 µL untuk menghentikan reaksi yang terjadi. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 412 nm. Blanko dibuat dengan cara seperti sebelumnya tanpa ditambahkan ekstrak. Pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Presentase penghambatan enzim lipase pankreas dihitung dengan persamaan 3.6.

$$\text{Penghambatan lipase (\%)} = \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.6})$$

Keterangan:

$A_b$  = Absorbansi blanko

$A_s$  = Absorbansi sampel

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Rendemen daun krangean memiliki hasil yang meningkat seiring meningkatnya kepolaran pelarut yang digunakan. Rendemen HK, EAK, dan MK masing-masing 3,94%; 4,37%; dan 5,12%
2. Ekstrak HK, EAK, dan MK berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan dengan Vitamin C sebagai kontrol pada uji peredaman DPPH dengan MK yang paling tinggi nilai peredamannya, sedangkan pada uji peredaman anion superoksida ketiga ekstrak masih kecil nilai peredamannya dibandingkan dengan kontrol Vitamin C.
3. Ekstrak EAK memiliki aktivitas paling baik dari ekstrak HK dan MK sebagai antihiperlipidemia karena nilai persen penghambatannya paling tinggi.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap fraksi yang memiliki aktifitas tertinggi terhadap pengujian yang telah dilakukan agar mengetahui senyawa aktif yang berperan didalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, N., Choudhary, A.S., Sharma, M.C., Dobhal, M.P., 2011. Chemical constituents of plants from the genus *Litsea*. *Chemistry & Biodiversity* 8, 223–243.
- Agrawal, N., Pareek, D., Dobhal, S., Sharma, M.C., Joshi, Y.C., Dobhal, M.P., 2013. Butanolides from methanolic extract of *Litsea glutinosa*. *Chemistry & Biodiversity* 10, 394–400.
- Amarowicz, R. Naczk, M., and Shahidi, F. 2000. *Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls*. JAOCs.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the generative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90: 7915-7922.
- Andarwulan, N., H. Wijaya, dan D.T. Cahyono. 1996. Aktivitas Antioksidan dari Daun Sirih (*Piper betle* L), dalam Suratmo. 2009. *Potensi Ekstrak Daun sirih merah (Piper crocatum) sebagai Antioksidan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Aschenbrenner, D. S. and Samantha, J. Veneable. 2009. *Drug Therapy in Nursing Third Edition*. China: Wolters Kluwer Health.
- Azizah, Dyah Nur., Kumolowati, Endang., Faramayuda, Fahrauk. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl<sub>3</sub> pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Vol (2)*, 45-49
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal* Vol V Edisi pertama. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia
- Baker, P.J. 1997. Seeding establishment and growth across forest type in an evergreen deciduous forest mosaic in western Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 4(5):17-41
- Balai Taman Nasional Meru Betiri. 2016. *Potensi Flora Taman Nasional Meru Betiri*. [http://merubetiri.com/detail\\_statis/id/18/potensi\\_flora.html](http://merubetiri.com/detail_statis/id/18/potensi_flora.html). [10 Agustus 2016]
- Biesaga, M & Pyrzynska, K. 2013. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. *Food Chem*, 136: 46–54.
- Bors, W. & Michel, C. 2002. Chemistry of antioxidant effect of polyphenols. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 957: 57-69.
- Bubols, G. B., Vianna, D. D. R., Medina-Remón, A., Poser, G. V., Lamuel-Ravantos, R., Eifler-Lima, V., & Gracia, S. C. 2013. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13: 000-000.

- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi., B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., & Kim., S. K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal Plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*, 163: 1161-1168.
- Chen, C., 2005. Study on the antioxidation of Litsea cubeba oil. *Food Research and Development* 26, 155–158.
- Chen, C.-J., Tseng, Y.-H., Chu, F.-H., Wen, T.-Y., Cheng, W.-W., Chen, Y.-T., Tsao, N.-W., Wang, S.-Y., 2012. Neuropharmacological activities of fruit essential oil from *Litsea cubeba* Persoon. *Journal of Wood Science* 58, 538–543.
- Chen, L., Cheng, W.-M., Hu, C.-M., Jin, Y., Li, R., Li, J., 2004. Study on anti inflammatory effects of total flavonoids of *Litsea coreana* Leve. var. *Anhui Yi Ke Da Xue Xue Bao* 39, 39–442.
- Das, D., Maiti, S., Maiti, T.K., Islam, S.S., 2013. A new arabinoxylan from green leaves of *Litsea glutinosa* (Lauraeae): structural and biological studies. *Carbohydrate Polymers* 92, 1243–1248.
- Desmiaty, Y., Julia, R., & Peni, A. 2009. *Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) secara Kolorimetri Komplementer*. Dipresentasikan pada Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Dziedzic, S. Z. & Hudson, B. J. F. 1983. Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem.* 12: 205-212
- Fitriani. 2009. *Efektivitas Latihan Kultivasi (Falun Dafa) Terhadap Penurunan Tekanan Darah pada Penderita Hipertensi di Dusun X Desa Buntu Bedimbar Kecamatan Tanjung Morawa Kabupaten Deli Serdang*: Program Studi Ilmu Kependidikan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. 2010. Phenolic compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*. 15: 8813–8826.
- Gogoi, P., Baruah, P., Nath, S.C., 1997. Antifungal activity of the essential oil of *Litsea cubeba* Pers. *Journal of Essential Oil Research* 9, 213–215.
- Harbone, JB., Simmonds, NW. 1964. *Biochemistry of Phenolic Compound*. Academic Press, London.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytic Chemistry*. New York: McGraw-Hill.
- Haslam, E. 1974. Polyphenol–protein interactions. *Biochemical Journal*.139: 285–288.

- Hoang, V.D., Tan, G.T., Zhang, H.-J., Tamez, P.A., Hung, N.V., Cuong, N.M., Soejarto, D.D., Fong, H.H., Pezzuto, J.M., 2002. Natural anti-HIV agents—Part I: demethoxyepiexcelsin and verticillatol from *Litsea verticillata*. *Phytochemistry* 59, 325–329.
- Houghton, P. J. & A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extract*. Chapman and Hall, London.
- Hyun, T. K., Kim, M. O., Lee, H., Kim, Y., Kim, E., & Kim, J. S. 2013. Evaluation of anti-oxidant and anti-cancer properties of *Dendropanax morbifera* Léveille. *Food Chem*, 141: 1947–1955.
- ICS-UNIDO. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Indrawati, N. L., & Razimin. 2013. *Bawang Dayak Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Joshita, D., Azizahwati. & Wahyuditomo. 2000. Pengaruh daun jati belanda terhadap kerja enzim lipase secara in vitro. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 6(2): 16-22
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 18: 2328-2375.
- Khokar, S. & Apenten, R. K. O. 2003. Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure-activity relations. *Food Chem*. 81: 133-140.
- Kong, De-Gang., Zhao, Yu., Li, Guo-Hui., Chen, Bang-Jiao., Wang, Xiao-Ning., Zhou, Hong-Lei., Lou, Hong-Xiang., Ren, Dong-Mei., Shen, Tao. 2015. The genus *Litsea* in traditional Chinese medicine: An ethnomedical, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology* (2015)
- Kristijianto. A. Ign., Soetjipto Hartati, Irtianti Sulis. 2012. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Berbagai Fraksi Ekstrak Kasar Kulit Batang Krangean (*Litsea cubeba* Pers.) Terhadap Larva Udang Renik Air Asin (*Artemia salina* leach)
- Lehninger, Albert L. 1982. Principles of Biochemistry. Worth Publisher, Inc. Terjemahan Thenawidjaja Maggy. 2000 . Dasar – dasar Biokimia Jilid 1. Jakarta: Erlangga
- Leniger, H. H. & Beverloo, W. A. 1975. Food processing Engineering. D. Reidel Publ. Co. Boston.

- Lu, C.-D., Huang, D.-Z., Li, Z.-Z., Li, X.-D., 1988. Study on *in vitro* dissolution of gallstone: a comparison of conventional dissolving agents 6, 005, Zhejiang Da Xue Xue Bao. *Yi Xue Ban* 6, 005.
- Marina Elvi, Manurung Hetty, Nugroho Rudy Agung. 2015. Uji Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Balangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Fitokimia*. 1(1): 1-10
- Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. 2005. *Total Phenolic and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables*. *J. University Chem. Tech. Metallurgy*, 40(3):225-260.
- McDaugall, G. J., Kulkarni, N. N., dan Stewart, D. 2008. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry*. 155: 193-199.
- Nakaku, N. 2002. *Amano Enzyme for Diagnostic*. Japan: Amano Enzyme Inc.
- Nimse, S. B & Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 5: 27986.
- Perron, N. R. & Brumaghim, J. L. 2009. A review of antioxidant mechanisms of polyphenols compound related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys*. 53: 75-100.
- Pliego, Jorge., J. C. Mateos., J. Rodriguez., F. Valero., M. Baeza., R. Femat., R. Camacho., G. Sandoval., and E. J. H. Lopez. 2015. Monitoring Lipase/Esterase Activity By Stopped Flow In A Sequential Injection Analysis System Using *p*-Nitrophenil Butyrate. *Biotechnology*. 15: 2798-2811.
- Pradono, Dyah Iswantini., Darusman, Latifah Kosim., Susanti, Ai. 2011. Inhibisi Lipase Pankreas secara *In Vitro* oleh Ekstrak Air dan Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dan Rimpang Kunci Pepet (*Kaempferiae rotundae*). *Jurnal Natur Indonesia*. 13(2): 1-9
- Putri, Wisda Seviana., Supriyanti, F. M Titin., Zackiyah. 2010. Penentuan Aktivitas dan Jenis Inhibisi Ekstrak Metanol Kulit Batang *Artocarpus heterophyllis* LAMK sebagai Inhibitor Tirosinase. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia Vol (1)*, 94-99
- Qian, B.-C., Gong, W.-G., Chen, Y., Zhang, Y.-Q., Xu, H.-J., Zhang, L.-X., 1980. Pharmacological studies on anti-asthmatic and anti-anaphylactic activities of the essential oil of *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. *Yao Xue Xue Bao* 15 (584–584).
- Rahardjo, R. 2009. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Jakarta: EGC
- Rayner, C. M & Raynel, G. R. J. F. 2011. *Process for the capture of carbon dioxide*. <http://www.google.com/patents/WO2011135378A1?cl=en>

- Reyneton, K. A. 2007. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. New York: The City University of New York.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20: 933-956
- Saikia, Anil Kumar., Chetia, Dipak., D'Arrigo, Manuela., Smeriglio, Antonella., Strano, Tonia., Ruberto, Giuseppe. 2013. Screening of fruit and leaf essential oils of *Litsea cubeba* Pers. From north-east India – Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Essential Oil Research*, 25:4,330-338
- Samitra, D., Zico, F. R., & Sanjaya. 2013. Pengaruh Pemberian Jus Myrmeleon Sp Terhadap Kadar Trigliserida Mus Musculus Swiss Webster Jantan. *Jurnal perspektif pendidikan*. Vol 6 (1): 7-21.
- Shin, J.E, Han, M.J. & Kim, D.H.2003. 3-Methylethergalangin isolated from *Alpinia officinarum* inhibits pancreatic lipase. *Biol Pharm Bull* 26(6):854-857
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of enology and viticulture*. 16: 144-158).
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C., & Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. *Phytochem. Anal*, 11: 330–338.
- Soto-Vaca, A., Losso, J. N., Xu, Z., Finley, J. W. 2012. Review: Evolution of phenolic compound from color and flavor problem to health benefits. *J. Agric. Food Chem.* Epub ahead of print.
- Suhartono, E., Fujiaty, Aflanie, I. 2002. *Oxygen toxicity by radiation and effect of glutamic piruvat transamine (GPT) activity rat plasma after vitamine C treatment*, dalam Suratmo. 2007. *Uji aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi, l.) Terhadap 1,1-diphenyl-2- picrylhidrazyl (DPPH)*. Jurnal Teknologi Farmasi Fakultas Teknik Universitas Setia Budi ; Yogjakarta.
- Sun, Y.-Q., Guo, Y.-w., 2006. Studies on the chemical constituents of *Litsea verticillata* Hance. *Zhong Guo Ke Ji Lun Wen Zai Xian* 1, 76–78.
- Swamy, N., Prashanth, K. N., & Basavaish, K. 2014. Redox-Reaction Based Spectrophotometric Assay of Isoniazid in Pharmaceuticals. *ISRN Analytical Chemistry*.

- Taga, M. S., Miller, E. E., & Prat, D. E. 1984. Chia seeds as a source of nature lipid antioxidants. *J. Am. Oil. Chem. Soc*, 61: 928-931.
- Tang, W.J., Zhang, Y.L., Xiao, Q.P., Huang, C., Jin, Y., Li, J., 2013. Four flavanocoumarins from the leaves of *Litsea coreana* Lev. *Chemistry & Biodiversity* 10, 1128–1132.
- Tang, X., He, Z., Day, Y., Xiong, Y.L., Xie, M., & Chen, J. 2010. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate. *J. Agric. Food Chem*, 58: 587-593.
- Tauber, H. 1953. *Oxidation of Pyrogallol to Purpuro by Crystalline Catalase*. California: Chapel Hill.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006. *Phenolic compound biochemistry*. Springer, Dordrecht.
- Wahyudi, L. P. 2015. Potensi Ekstrak Fenolik Tanaman Obat Taman Nasional Merubetiri: Bidara Upas (*Merremia mammosa*) dan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai Antidiabetik dan Antioksidan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Wang, J.-q., Li, J., Zou, Y.-h., Cheng, W.-m., Lu, C., Zhang, L., Ge, J.-f., Huang, C., Jin, Y., Lv, X.-W., 2009. Preventive effects of total flavonoids of *Litsea coreana* Leaves on hepatic steatosis in rats fed with high fat diet. *Journal of Ethnopharmacology* 121, 54–60.
- Wang, Y.-S., Liao, Z., Li, Y., Huang, R., Zhang, H.-B., Yang, J.-H., 2011. A new megastigmane diglycoside from *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22, 2234–2238.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Xiao, Y., Li, Z.-Y., Li, L., 2006. Chemical constituents (II) from *Litsea euosma* W.W. Smith. *Yunnan Chemical Technology* 33, 22–23.
- Xiao, Y., Zhao, J.-F., Yang, X.-D., Li, G.-P., Yang, J.-H., Zhang, H.-B., Li, L., 2006. Two new phenyl esters from *Litsea euosma*. *Journal of Asian Natural Products Research* 8, 411–415.
- Yan, X.-H., Wei, X.-Y., Xie, H.-H., Liu, M.-F., Zhang, F.-X., 2000. Aporphine alkaloids of *Litsea rotundifolia* and *L. rotundifolia* var. *oblongifolia*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* 8, 324–328.
- Yang, J.-H., Li, L., Wang, Y.-S., Zhao, J.-F., Zhang, H.-B., Luo, S.-D., 2005. Two new aporphine alkaloids from *Litsea glutinosa*. *Helvetica Chimica Acta* 88, 2523–2526.

- Ye, H., Jin, L.Q., Yu, J.P., Wu, J.Z., 2006. Research on the mechanism of antioxidation of flavoniods from leaves of *Litsea coreana*. *Journal of Wenzhou Medical College* 36, 424–427.
- Yuting, Chen., Rongliang, Zheng., Zhongjian, Jia., Yong, Ju. 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Journal of Free Radical & Medicine*, Vol (9):19-21.
- Zhang, H., Tan, G., Hoang, V., Hung, N., Cuong, N., Soejarto, D., Pezzuto, J., Fong, H., 2003. Natural anti-HIV agents. Part 3: *Litsea verticillols A–H*, novel sesquiterpenes from *Litsea verticillata*. *Tetrahedron* 59, 141–148.
- Zhang, H., Van Hung, N., Cuong, N.M., Soejarto, D.D., Pezzuto, J.M., Fong, H.H., Tan, G.T., 2005. Sesquiterpenes and butenolides, natural anti-HIV constituents from *Litsea verticillata*. *Planta Medica* 71, 452.
- Zhang, H.-J., Tan, G.T., Santarsiero, B.D., Mesecar, A.D., Hung, N.V., Cuong, N.M., Doel Soejarto, D., Pezzuto, J.M., Fong, H.H., 2003. New Sesquiterpenes from *Litsea verticillata*. *Journal of Natural Products* 66, 609–615.
- Zhao, Y., Guo, Y.W., Zhang, W., 2005. Rotundifolides A and B, two new enol-derived butenolactones from the bark of *Litsea rotundifolia* var. *oblongifolia*. *Helvetica Chimica Acta* 88, 349–353.
- Zhu, H., Wang, Y. Z., Liu, Y. X. & Xia, Y. L. 2009. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. *Food Analytical Methods*, 3: 2.

## LAMPIRAN

### Lampiran 4.1 Validasi Tanaman Krangean

**KEMENTERIAN KEHUTANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERLINDUNGAN HUTAN DAN KONSERVASI ALAM  
BALAI TAMAN NASIONAL MERU BETIRI**  
Jl. Sriwijaya 53 Kotak Pos 269 Jember 68101 Telp/Fax. +62331335535  
email : admin@merubetiri.com Website :www.merubetiri.com

**BERITA ACARA PEMERIKSAAN PENGAMBILAN SAMPEL TUMBUHAN**

Nomor : BA. /BTNMB-1/2017

-----Pada hari ini Kamis, tanggal Dua bulan Maret tahun Dua ribu Tujuh Belas, berdasarkan SIMAKSI Nomor : SI.2996/BTNMB/TU/PPI/2/2017 tanggal 28 Februari 2017 dan Surat Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember Nomor : 596/UN25.1.9./PI/2017 tanggal 21 Februari 2017 yang bertanda tangan di bawah ini -----

1.	Nama/NIP : Nur Rohmah Syarif S.Si. MP. / 197209051999032001----- Pangkat / Gol. : Penata Tk. I / (III/d) ----- Jabatan : PEH Muda -----
2.	Nama/NIP : Iva Tri Lindasari / 198310222002122002 ----- Pangkat / Gol. : Pengatur Tk. I / (II/d) ----- Jabatan : PEH Pelaksana Lanjutan -----

Dengan ini telah melakukan pemeriksaan sampel tumbuhan untuk keperluan penelitian oleh Mahasiswa Peneliti Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, dengan hasil sebagai berikut :

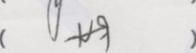
No.	Nama / Jenis	Jumlah (sampel)	Keterangan
1.	Sampel Tumbuhan Sintok ( <i>Cinnamomum sintoc</i> )	1 kg	-
2.	Sampel Tumbuhan Garu ( <i>Antidesma montanum</i> )	1 kg	-
3.	Sampel Tumbuhan Krangean ( <i>Litsea cubeba</i> )	1 kg	-
4.	Sampel Tumbuhan Bidara upas ( <i>Merremia mammosa</i> )	1 kg	-
	Jumlah	4 kg	

Sampel tumbuhan tersebut benar-benar telah diperiksa dan diangkut ke kampus Universitas Jember untuk kepentingan penelitian di Kampus Universitas Jember. -----

Jember, 2 Maret 2017

Yang diperiksa,  
Pemohon,  
  
Ardine Kumalasari

Yang memeriksa,

1. Nur Rohmah Syarif S.Si MP NIP. 197209051999032001	(  )
2. Iva Tri Lindasari NIP. 198310222002122002	(  )

Mengetahui,  
a.n. Kepala Balai TN. Meru Betiri  
Kepala Sub Bagian Tata Usaha

  
Sulistrianto S.Si M.Si  
NIP. 196805101995031002

**Lampiran 4.2 Kadar Air Krangean**

Sampel	Pengulangan	Massa awal (g)	Massa akhir (g)	Kadar air (%)	Rata-	
					rata(%)	STD
Daun	1	1,02	0,42	58,8		
	2	1,04	0,37	64,4	62,6	3,32
	3	1,02	0,36	64,7		
Simplisia	1	1,05	0,92	12,4		
	2	1,08	0,95	12	11,9	0,56
	3	1,06	0,94	11,3		

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{massa awal} - \text{massa akhir}}{\text{massa awal}} \times 100\%$$

$$\text{Daun 1} = \frac{1,02 - 0,42}{1,02} \times 100\% = 58,8\%$$

$$\text{Simplisia 1} = \frac{1,05 - 0,92}{1,05} \times 100\% = 12,4\%$$

**Lampiran 4.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak**

- a. Warna ekstrak daun krangean



b. Rendemen

Ekstrak	Massa Ekstrak (g)	Massa Simplisia (g)	Rendemen (%)
HK	1,97	50,00	3,94
EAK	2,10	48,03	4,37
MK	2,35	45,93	5,12

$$\% \text{ Rendemen} = \left( \frac{\text{Massa Ekstrak}}{\text{Massa Simplisia}} \right) \times 100\%$$

$$\text{HK} = \left( \frac{1,97}{50,00} \right) \times 100\% = 3,94\%$$

$$\text{EAK} = \left( \frac{2,10}{48,03} \right) \times 100\% = 4,37\%$$

$$\text{MK} = \left( \frac{2,35}{45,93} \right) \times 100\% = 5,12\%$$

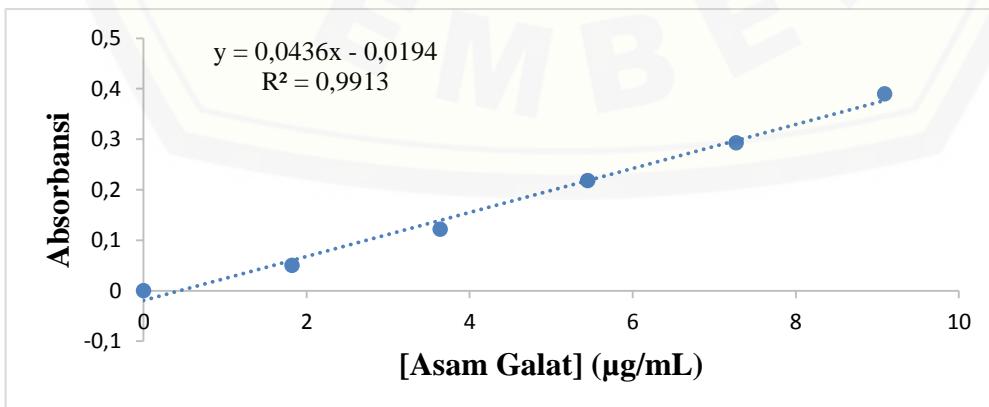
**Lampiran 4.4 Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Total Fenolik dan Flavonoid**

$$[\text{Ekstrak}] = \frac{\text{Massa Ekstrak}}{\text{Volume Metanol}}$$

Ekstrak	Massa Ekstrak (mg)	Volume Metanol (mL)	[Ekstrak] (mg/mL)
HK	22,68	10	2,27
EAK	22,60	10	2,26
MK	22,18	10	2,29

**Lampiran 4.5 Perhitungan Analisa Total Fenolik**

1. Kurva Standar Asam Galat



## 2. Total Fenolik

$$y=0.0436x-0.0194$$

$$x_1 = \frac{Abs+0.0194}{0.0436} \rightarrow \mu\text{g AGE/mL}$$

$$x_2 = x_1 \times FP \rightarrow \mu\text{g AGE/mL}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Ekstrak}]} \rightarrow \text{mg AGE/g}$$

[Fenolik] → mg AGE/g

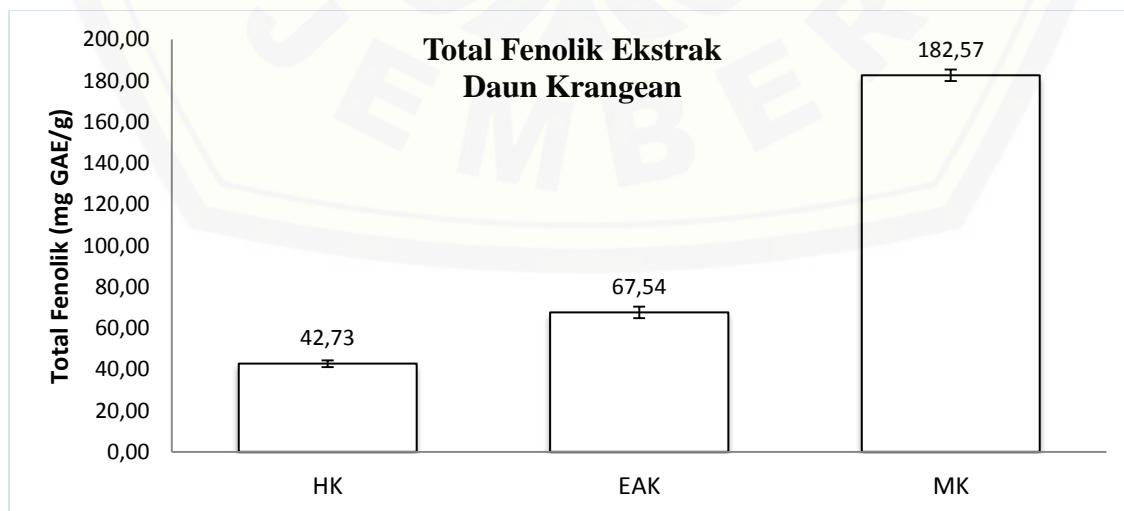
Ekstrak	Absorbansi	x1	fp	x2	x3	x rata-rata	STD
HK	0,012	0,72	137,50	99,03	43,66		
	0,010	0,67	137,50	92,72	40,88	42,73	1,61
	0,012	0,72	137,50	99,03	43,66		
EAK	0,031	1,16	137,50	158,94	70,33		
	0,029	1,11	137,50	152,64	67,54	67,54	2,79
	0,027	1,06	137,50	146,33	64,75		
MK	0,107	2,90	137,50	398,62	179,72		
	0,111	2,99	137,50	411,24	185,41	182,57	2,84
	0,109	2,94	137,50	404,93	182,57		

Keterangan:

x1 = konsentrasi larutan uji

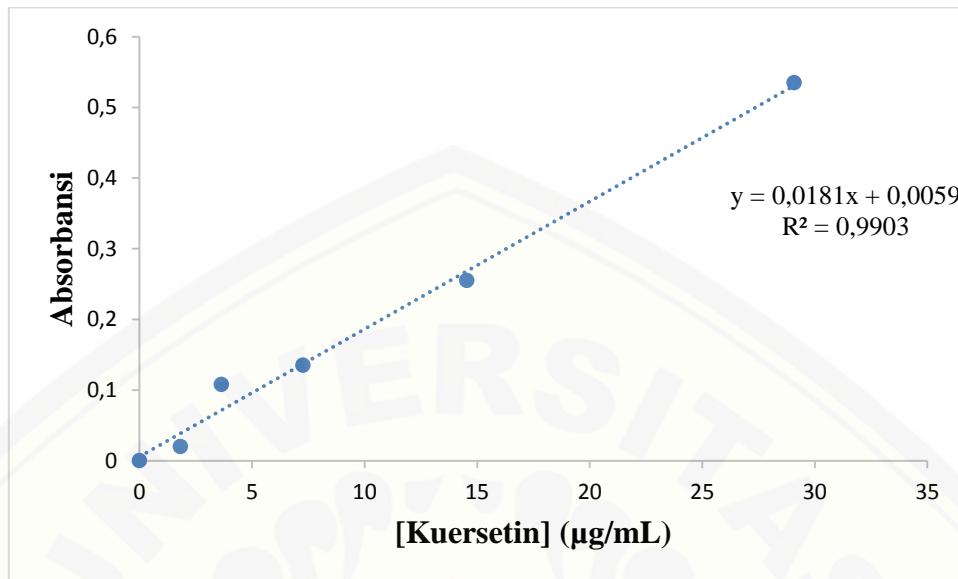
x2 = konsentrasi larutan stok

x3 = konsentrasi ekstrak daun krangean



#### Lampiran 4.6 Perhitungan Analisa Total Flavonoid

##### 1. Kurva Standar Kuersetin



##### 2. Total Flavonoid

$$y=0,0181x + 0,0059$$

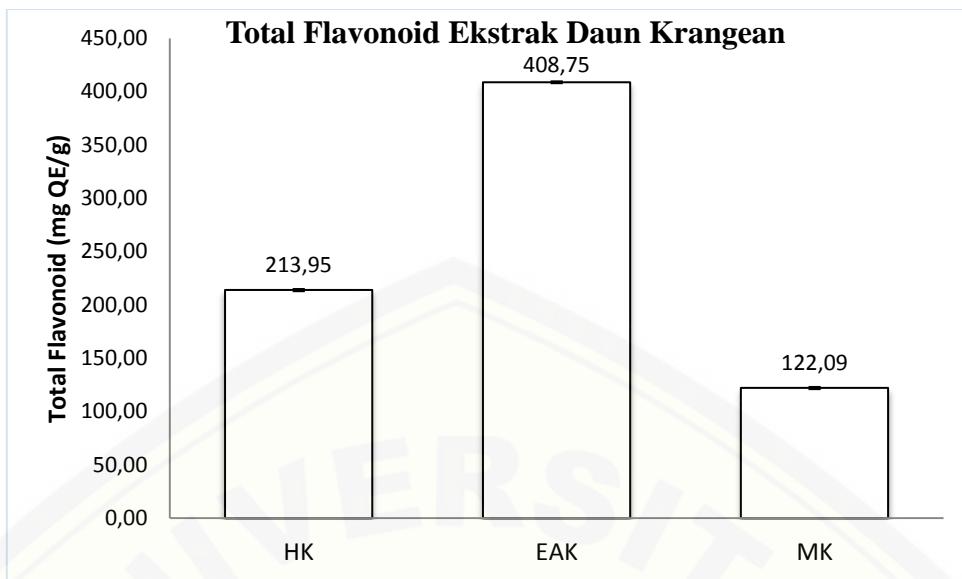
$$x_1 = \frac{\text{Abs}+0,0059}{0,0181} \rightarrow \mu\text{g QE/mL}$$

$$x_2 = x_1 \times FP \rightarrow \mu\text{g QE/mL}$$

$$x_3 = \frac{x_2}{[\text{Ekstrak}]} \rightarrow \text{mg QE/g}$$

[Flavonoid]  $\rightarrow$  mg QE/g

Ekstrak	Absorbansi	x1	fp	x2	x3	x rata-rata	STD
HK	0,273	14,75691	32,8	484,0265	213,42		
	0,27	14,59116	32,8	478,5901	211,02	213,95	3,23
	0,278	15,03315	32,8	493,0873	217,41		
EAK	0,512	27,96133	32,8	917,1315	405,81		
	0,525	28,67956	32,8	940,6895	416,23	408,75	6,53
MK	0,51	27,85083	32,8	913,5072	404,21		
	0,154	8,18232	32,8	268,3801	121,00		
	0,16	8,513812	32,8	279,253	125,90	122,09	3,40
	0,152	8,071823	32,8	264,7558	119,37		



#### Lampiran 4.7 Perhitungan Analisa Peredaman DPPH

- a. Pembuatan larutan DPPH ( $Mr = 394,32$ )  $90 \mu\text{M}$  (25 mL)

$$M = \frac{mol}{V} = \frac{gram}{Mr.V}$$

$$\text{Gram} = Mr \times M \times V$$

$$= 394,32 \text{ g/mol} \times 90 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l} \times 25 \cdot 10^{-3} \text{ l} = 0,00089 \text{ gram}$$

[Fenolik]  $\rightarrow \mu\text{g GAE/mL}$

$$\% \text{Peredaman} = \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100\%$$

$A_0$  = Absorbansi  $\rightarrow$  [Fenolik] = 0

$A_1$  = Absorbansi  $\rightarrow$  [Fenolik] tertentu mulai  $0,3 - 2,5$

$$IC_{50} = 10^{\left(\frac{y-c}{m}\right)}$$

Keterangan :

$A_0$  = Absorbansi kontrol

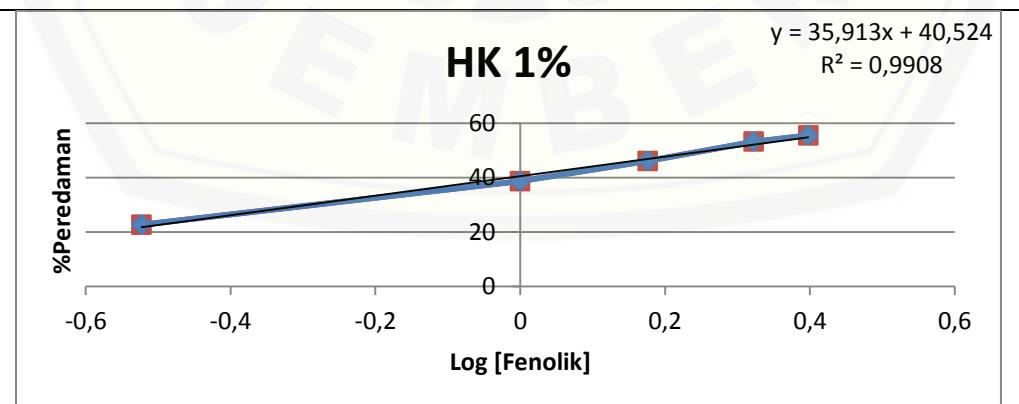
$A_1$  = Absorbansi sampel

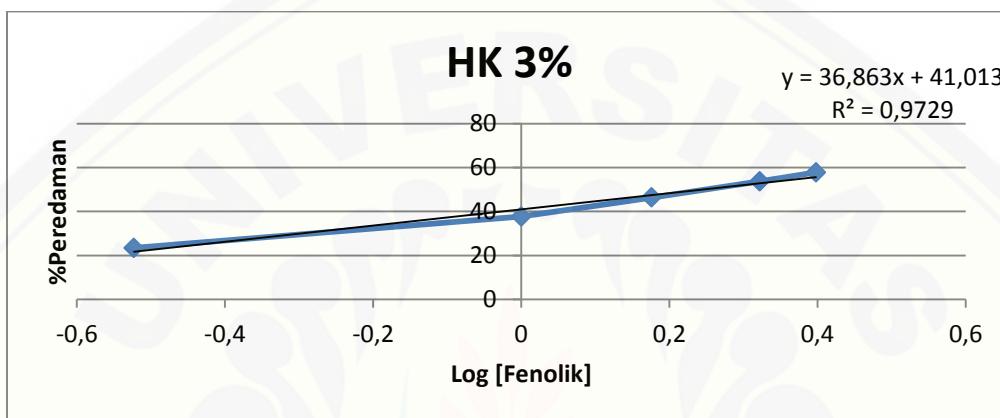
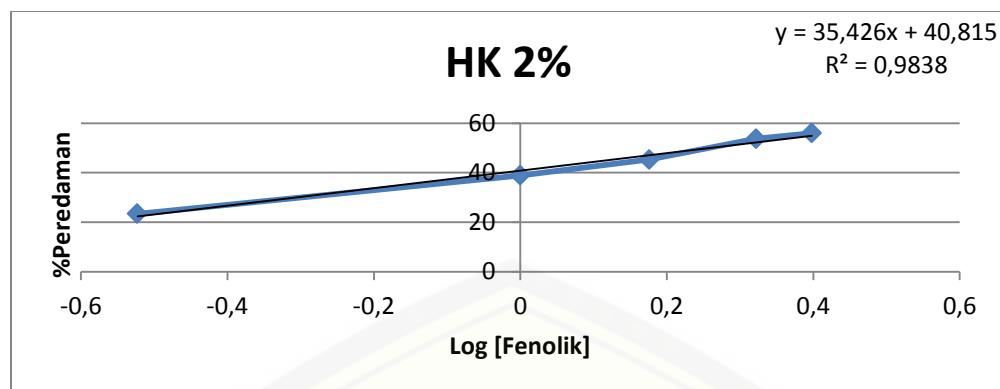
$m$  = gradient persamaan

$c$  = konstanta persamaan

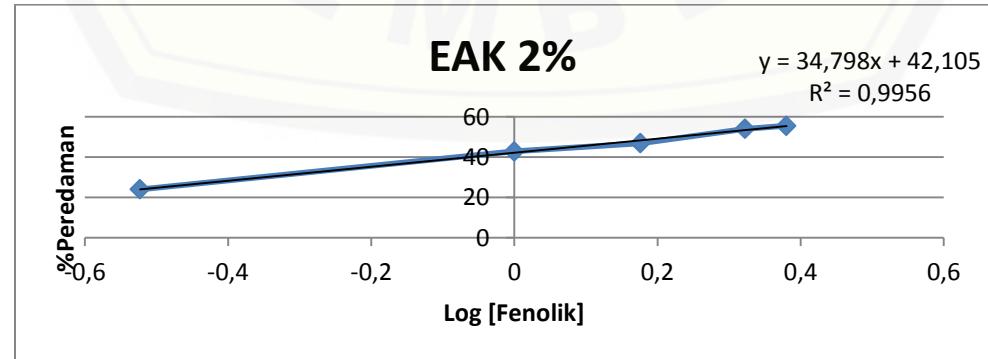
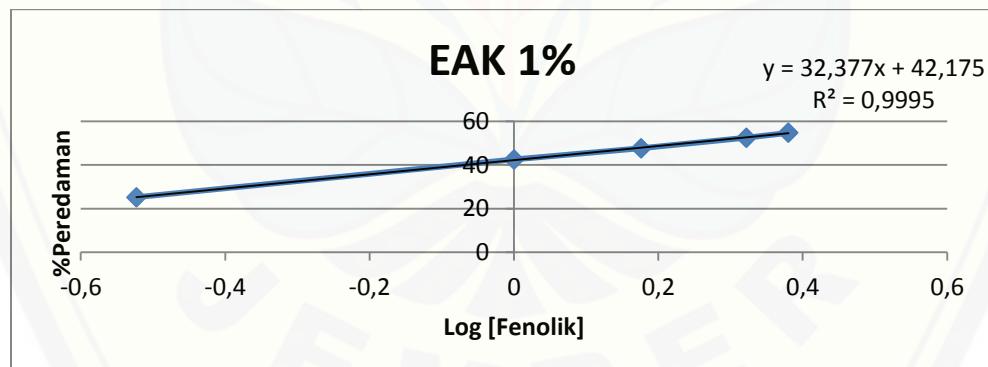
$y$  = % Peredaman (50%)

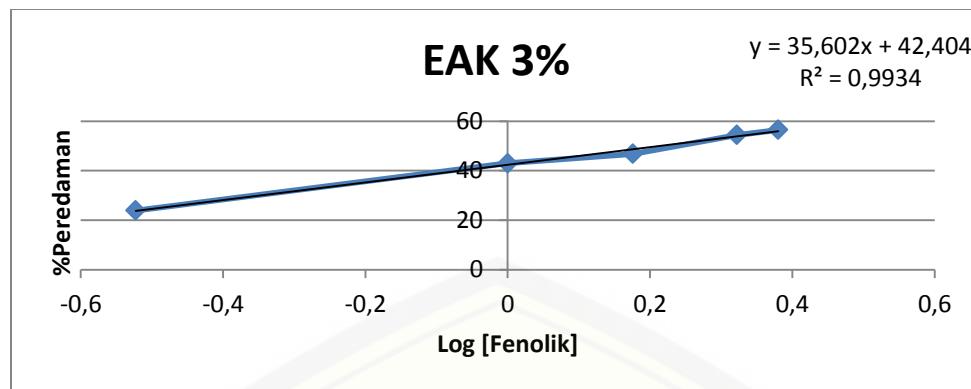
Ekstrak	[Fenolik]	Abs1	Abs2	Abs3	log [Fenolik]	y				IC <sub>50</sub>
						1%	2%	3%	IC <sub>50</sub>	
Blanko		0	0,393	0,393	0,393	0	0	0	0	
HK	0,3	0,304	0,301	0,301	-0,52	22,65	23,41	23,41	+ 40,524	1,84
	1	0,241	0,24	0,245	0	38,68	38,93	37,66	+ 40,815	1,82
	1,5	0,212	0,215	0,211	0,18	46,06	45,29	46,31	+ 41,013	1,75
	2,1	0,184	0,182	0,182	0,325	53,18	53,69	53,69		
	2,5	0,175	0,173	0,166	0,40	55,47	55,98	57,76		
EAK	0,3	0,294	0,299	0,299	-0,52	25,19	23,92	23,92	+ 42,175	1,74
	1	0,226	0,225	0,224	0	42,49	42,75	43,00	+ 42,105	1,69
	1,5	0,206	0,209	0,209	0,18	47,58	46,82	46,82	+ 42,404	1,63
	2,1	0,187	0,181	0,179	0,325	52,42	53,94	54,45		
	2,5	0,178	0,175	0,171	0,40	54,71	55,47	56,49		
MK	0,3	0,282	0,28	0,28	-0,52	28,24	28,75	28,75	+ 52,829	0,87
	1	0,187	0,189	0,185	0	52,42	51,91	52,93	52,69	0,87
	1,5	0,142	0,143	0,153	0,18	63,87	63,61	61,07	+ 52,734	0,87
	2,1	0,133	0,137	0,127	0,325	66,16	65,14	67,68		
	2,5	0,115	0,114	0,117	0,40	70,74	70,99	70,23		



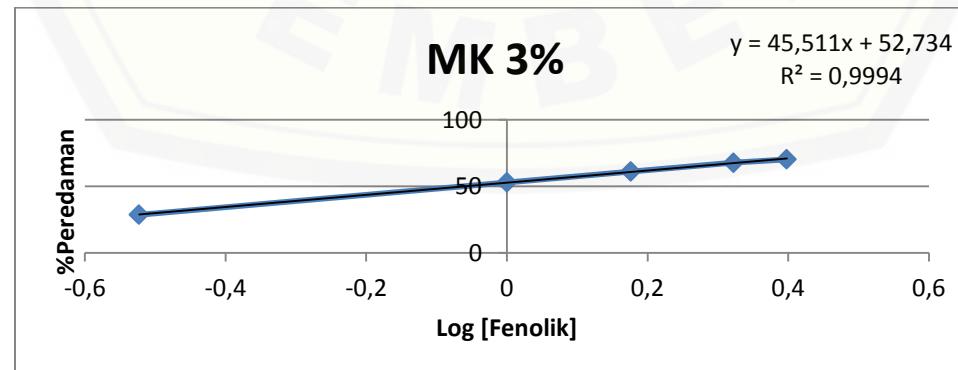
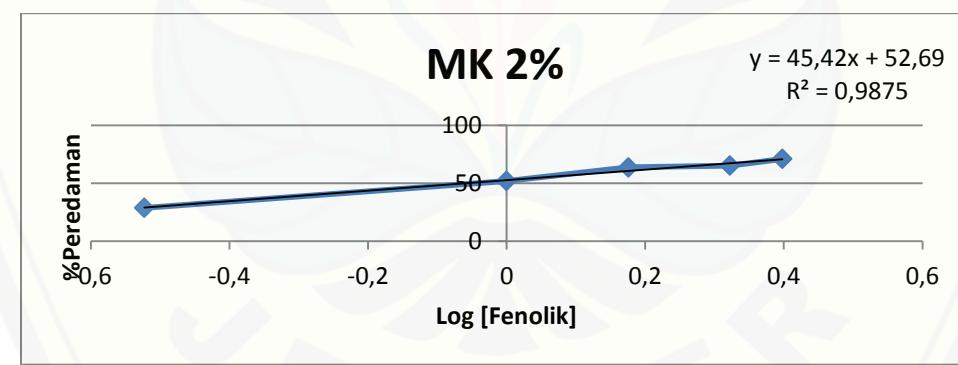
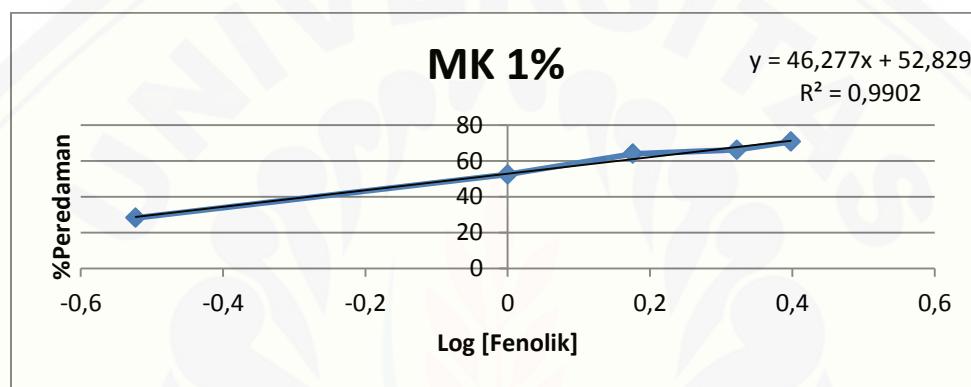


Kurva Peredaman DPPH ekstrak HK





Kurva Peredaman DPPH ekstrak EAK



Kurva Peredaman DPPH ekstrak MK

#### **Lampiran 4.8 Perhitungan %Peredaman Anion Superoksida**

$$\% \text{Peredaman} = \left( \frac{\text{Slope blanko} - \text{Slope sampel}}{\text{Slope blanko}} \right) \times 100\%$$

Ekstrak	Slope Blanko	Slope Sampel	% Peredaman	Rerata % Peredaman	STD
HK	0,2975	0,1716	42,32		
	0,2975	0,1837	38,25	38,79	3,29
	0,2975	0,191	35,80		
EAK	0,2975	0,1603	46,12		
	0,2975	0,1714	42,39	42,31	3,85
	0,2975	0,1832	38,42		
MK	0,2975	0,2249	24,40		
	0,2975	0,2125	28,57	25,67	2,52
	0,2975	0,226	24,03		
Vit C	0,2975	0,144	51,60		
	0,2975	0,1329	55,33	54,17	2,24
	0,2975	0,1321	55,60		

#### **Lampiran 4.9 Perhitungan Penghambatan lipase pankreas**

Ekstrak	abs	blank	abs-blank	% Penghambatan	Rerata % Penghambatan	STD
blanko	0,210					
	0,239	0,122	0,117	44,29		
	0,236	0,122	0,114	45,71	45,56	1,20
HK	0,234	0,122	0,112	46,67		
	0,329	0,235	0,094	55,24		
	0,33	0,235	0,095	54,76	54,29	1,26
EAK	0,334	0,235	0,099	52,86		
	0,21	0,08	0,13	38,1		
	0,213	0,08	0,133	36,67	37,3	0,73
MK	0,212	0,08	0,132	37,14		
	0,176	0	0,176	16,19		
	0,166	0	0,166	20,95	18,73	2,40
Orlistat	0,17	0	0,17	19,05		

### Perhitungan Persen Penghambatan Lipase

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab = Absorbansi blanko

As = Absorbansi sampel

### Lampiran 4.10 Pembuatan larutan-larutan Uji

- a. NaCO<sub>3</sub> 2% (w/v)

2 gram NaCO<sub>3</sub> + Akuades (labu ukur 100 mL)

- b. Asam galat 1,08 mg/mL

1,08 mg asam galat + 1 mL metanol Pa

- c. Folin-Ciocalteu 50%

1 mL Folin-Ciocalteu + 1 mL akuades

- d. AlCl<sub>3</sub> 10%

0,5 gram AlCl<sub>3</sub> + 5 mL akuades (labu ukur 5 mL)

- e. Kuersetin 1,16 mg/mL

1,16 mg kuersetin + 1 mL metanol Pa

- f. NaNO<sub>2</sub> 5%

5 gram NaNO<sub>2</sub> + akuades (labu ukur 100 mL)

- g. NaOH 1 M

4 gram NaOH + akuades (labu ukur 100 mL)

- h. Triton X-100 4%

2 gram Triton X-100 + akuades (labu ukur 50 mL)