



**PENETAPAN KADAR POLIFENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL , DAN UJI  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona  
muricata*) DARI JEMBER PADA KETINGGIAN TANAH  
YANG BERBEDA**

**SKRIPSI**

Oleh :

**AYU KARTIKA SARI  
NIM 092210101071**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**PENETAPAN KADAR POLIFENOL TOTAL, TOTAL FLAVONOID, DAN UJI  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona  
muricata*) DARI JEMBER PADA KETINGGIAN TANAH  
YANG BERBEDA**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan program strata satu pada Fakultas Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

oleh:

**AYU KARTIKA SARI  
NIM 092210101071**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## **PERSEMBAHAN**

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Syukur Alhamdulillah, dengan segala kerendahan hati saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Mama dan papa tersayang, Kusna'u Idhawati Churba dan Bambang Setiawan atas segala doa, dukungan, pengorbanan, cinta dan kasih sayang telah diberikan selama ini. Semoga Allah selalu melimpahkan ampunan dan pertolongan serta membalas dengan surganya;
2. Adik-adikku Dian Kusuma Ningrum dan Yulianita Hastuti yang selalu mendoakan dan memberi semangat agar skripsi cepat selesai;
3. Seluruh keluarga Madiun dan Ponorogo, terima kasih atas semua doa dan dukungan yang telah diberikan selama ini
4. Teman-teman angkatan 2009 dan 2010 khususnya Yeni Indah Atika, Dian Retno Palupi, Nadia Putih, Anisya Rahmawati, Hery Diar, Siti Zulaikha, Aru Mahendra, dan Hidayatul Ulya yang telah memberi semangat;
5. Bapak dan Ibu Guru di SD Muhammadiyah 1 Jember, SMPN 3 Jember, SMAN 1 Jember, dan dosen-dosenku di Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pahlawan tanpa tanda jasa;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

## **MOTTO**

“Musuh yang paling berbahaya di atas dunia ini adalah penakut dan bimbang. Teman yang paling setia, hanyalah keberanian dan keyakinan yang teguh”

**(Andrew Jackson)**

“Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah”

**(Thomas Alfa Edison)**

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Kartika Sari

NIM : 092210101071

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dari Jember pada Ketinggian Tanah yang Berbeda” adalah hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, 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, 23 Januari 2015

Yang menyatakan,

(Ayu Kartika Sari)

NIM 092210101071

**SKRIPSI**

**PENETAPAN KADAR POLIFENOL TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN UJI  
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona  
muricata*) DARI JEMBER PADA KETINGGIAN TANAH  
YANG BERBEDA**

Oleh

Ayu Kartika Sari

NIM. 092210101071

Pembimbing :

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

Dosen Pembimbing Anggota : Siti Muslichah, S.Si., M.Sc, Apt.

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dari Jember pada Ketinggian Tanah yang Berbeda” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Jumat, 23 Januari 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Moch. Amrun Hidayat, S.Si., Apt., M.Farm.

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc, Apt.

NIP 197801262001121004

NIP 197305132005012001

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si, Apt.

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

NIP 197807282005012001

NIP 198107232006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dari Jember pada Ketinggian Tanah yang Berbeda;** Ayu Kartika Sari; 092210101071; 2014; 39 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Radikal bebas adalah molekul dengan elektron tak berpasangan yang dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh sehingga dapat menginaktivasi enzim-enzim dan membahayakan komponen-komponen sel serta menyebabkan kerusakan sel dan berimplikasi pada sejumlah penyakit, seperti aterosklerosis, iskemia, gangguan hati, gangguan syaraf, toksisitas logam, dan toksisitas pestisida. Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan untuk melawan radikal bebas. Hal ini yang mendorong para peneliti untuk menemukan senyawa antioksidan terutama dari bahan alam, misalnya *Annona muricata* (Sirsak).

Tanaman sirsak banyak mengandung senyawa, di antaranya senyawa alkaloid, asetogenin, polifenol dan flavonoid dan tanaman ini digunakan sebagai antihipertensi, antidiabetes, antiinflamasi, antikanker, antirematik, dan antioksidan. Aktivitas antioksidan, senyawa polifenol dan flavonoid dipengaruhi oleh lokasi tumbuh sehingga tanaman sirsak diambil di tiga lokasi di Kabupaten Jember, yaitu Ambulu (18 mdpl), Sumpalsari (83 mdpl), dan Patrang (234 mdpl).

Tujuan dari penelitian ini untuk melihat ada tidaknya perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol total, dan kadar flavonoid total daun sirsak yang tumbuh di masing-masing lokasi. Ekstrak yang diperoleh dari serbuk daun sirsak 350 gram yang dimaserasi selama 72 jam dengan etanol. Ekstrak etanol yang dihasilkan yaitu: dari Ambulu 20,79 gram, dari Sumpalsari 24,16 gram, dan dari Jumerto 25,78 gram digunakan dalam pengujian.

Uji aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dilakukan dengan metode DPPH. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan peredaman warna ungu DPPH. Parameter aktivitas antioksidan adalah nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dari persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan persen peredaman.



Selain uji aktivitas antioksidan, dilakukan penetapan kadar polifenol total masing-masing ekstrak dengan spektrofotometer UV-Vis. Kadar polifenol total diukur berdasarkan besarnya intensitas warna biru yang dihasilkan dari kompleks molibdenum-tungsten. Parameter kadar polifenol total adalah mg GAE/100 g simplisia.

Selain itu, dilakukan pula penetapan kadar flavonoid total masing-masing ekstrak dengan spektrofotometer UV-Vis. Standar yang digunakan untuk kurva standar adalah kuersetin. Kadar flavonoid total diukur berdasarkan besarnya intensitas warna kuning yang dihasilkan dari kompleks flavonoid- $\text{AlCl}_3$ . Parameter kadar flavonoid total adalah mg QE/100 g simplisia.

Berdasarkan penelitian tersebut, diperoleh hasil bahwa  $\text{IC}_{50}$  ekstrak di Ambulu, Sumpersari, dan Patrang berturut-turut adalah 108,6  $\mu\text{g/ml}$ ; 116,4  $\mu\text{g/ml}$ ; dan 127,1  $\mu\text{g/ml}$ , kadar polifenol total di Ambulu, Sumpersari, dan Patrang (dalam mg GAE/100 g simplisia) berturut-turut adalah 0,966; 0,782; dan 0,762, serta kadar flavonoid total di Ambulu, Sumpersari, dan Patrang (dalam mg QE/100 g simplisia) adalah 0,763; 0,624; dan 0,602.

Jika dikorelasikan, diperoleh hasil bahwa tidak terdapat korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap  $\text{IC}_{50}$  yaitu  $R = 0,991 < R_{\text{tabel}} = 0,997$  sehingga tidak terdapat korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar polifenol total dan kadar flavonoid total, berturut-turut yaitu  $R = 0,789 < R_{\text{tabel}} = 0,997$  dan  $R = 0,904 < R_{\text{tabel}} = 0,997$  sehingga ketinggian lokasi tumbuh tidak mempengaruhi kadar polifenol total dan kadar flavonoid total.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dari Jember pada Ketinggian Tanah yang Berbeda”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Lesty Wulandari, S.Si., Apt. M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Moch. Amrun Hidayat, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama, Siti Muslichah, S.Si., M.Sc, Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian serta dengan sabar membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;
3. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si, Apt. selaku Dosen Penguji I dan Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc, Apt. selaku Dosen Penguji II yang telah bersedia menjadi Dosen Penguji dan memberikan saran serta kritik membangun bagi skripsi penulis;
4. Indah Purnama Sary, S.Farm., Apt. dan Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si, Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku laboran laboratorium biologi, Bu Wayan dan Mbak Hani selaku laboran kimia, serta Mbak Indri dan Mbak Dinik yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian;
6. Para dosen yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Mama dan papa yang telah memberikan doa, dorongan, dan semangat demi terselesaikannya skripsi ini;
8. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik dari semua pihak diterima dengan senang hati demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 23 Januari 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN .....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah .....	3
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian .....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Tinjauan tentang <i>Annona muricata</i> .....	4
2.1.1 Klasifikasi .....	4
2.1.2 Nama lokal .....	4
2.1.3 Daerah tumbuh dan penyebarannya.....	4
2.1.4 Morfologi daun sirsak.....	5
2.1.5 Kandungan senyawa dalam daun sirsak .....	5
2.1.6 Manfaat daun sirsak .....	6
2.2 Tinjauan tentang radikal bebas .....	6

2.3 Tinjauan tentang Antioksidan.....	12
2.4 Tinjauan tentang polifenol dan mekanisme antioksidan.....	15
2.5 Tinjauan tentang flavonoid dan mekanisme antioksidan.....	18
2.6 Tinjauan tentang ekstraksi polifenol dan flavonoid.....	19
2.7 Metode peredaman radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....	19
2.8 Uji polifenol total.....	20
2.9 Uji flavonoid total.....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
3.1 Jenis penelitian.....	22
3.2 Definisi operasional.....	22
3.3 Tempat dan waktu penelitian.....	22
3.4 Bahan, alat, pengumpulan dan otentikasi bahan tanaman.....	22
3.4.1 Bahan.....	22
3.4.2 Alat.....	23
3.4.3 Pengumpulan dan otentikasi bahan tanaman.....	23
3.5 Prosedur penelitian.....	23
3.5.1 Pembuatan serbuk daun sirsak.....	23
3.5.2 Pembuatan ekstrak daun sirsak.....	23
3.5.3 Pembuatan larutan uji.....	23
3.5.4 Pembuatan kontrol positif.....	24
3.5.5 Pembuatan larutan DPPH.....	24
3.5.6 Pengujian aktivitas antioksidan.....	24
3.5.7 Penetapan kadar polifenol total.....	26
3.5.8 Penetapan kadar flavonoid total.....	27
3.6 Analisis data.....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>29</b>
4.1 Pembuatan ekstrak daun sirsak.....	29
4.2 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	29
4.2.1 Optimasi panjang gelombang DPPH.....	29

4.2.2 Optimasi waktu optimum.....	30
4.2.3 Pengukuran aktivitas antioksidan.....	31
4.3 Penentuan kadar polifenol total.....	34
4.4 Penentuan kadar flavonoid total.....	36
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
5.1 Kesimpulan .....	39
5.2 Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	44

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Mekanisme antioksidan primer .....	14
2.2 Mekanisme antioksidan sekunder .....	15
2.3 Mekanisme polifenol sebagai antioksidan .....	16
4.1 Absorbansi DPPH pada panjang gelombang 400-800 nm.....	30
4.2 Absorbansi rata-rata larutan DPPH 0,004% dengan penambahan asam galat 5 µg/ml mulai menit ke 5 hingga menit ke 60.....	31
4.3 Persen peredaman DPPH rata-rata ± SD ekstrak daun sirsak dari lokasi berbeda (n=3) .....	32
4.4 Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan IC <sub>50</sub> .....	34
4.5 Kadar polifenol rata-rata ± SD ekstrak daun sirsak di jember (n=3) .....	35
4.6. Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan kadar polifenol total.....	36
4.7 Kadar flavonoid rata-rata ± SD ekstrak daun sirsak di jember (n=3) .....	37
4.8 Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar flavonoid total.....	38

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Spesies oksigen reaktif golongan radikal dan nonradikal .....	12
4.1. Hasil penimbangan ekstrak daun sirsak dari tiga lokasi berbeda.....	29
4.2 Nilai IC <sub>50</sub> ekstrak daun sirsak.....	33



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Determinasi tumbuhan .....	44
B. Pengamatan absorbansi DPPH .....	45
C. Pengamatan absorbansi sampel .....	48
C.1 Absorbansi ekstrak daun sirsak ambulu .....	48
C.2 Absorbansi ekstrak daun sirsak sumbersari.....	52
C.3 Absorbansi ekstrak daun sirsak patrang .....	56
D. Perhitungan .....	60
E. Grafik absorbansi DPPH .....	69
F. Penentuan <i>operating time</i> .....	70
G. Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak .....	71
G.1 Tabel absorbansi hitung .....	71
G.2 Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak dari tiga lokasi berbeda.....	72
G.3 Konsentrasi ekstrak daun sirsak ambulu terhadap peredaman DPPH.....	73
G.4 Konsentrasi ekstrak daun sirsak sumbersari terhadap peredaman DPPH.....	74
G.5 Konsentrasi ekstrak daun sirsak patrang terhadap peredaman DPPH.....	75
G.6 Konsentrasi asam galat terhadap peredaman DPPH (%) .....	76
G.7 Konsentrasi asam galat terhadap peredaman DPPH (%) .....	77
G.8 Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak 3 lokasi.....	78
H. Kadar polifenol total ekstrak daun sirsak.....	79
H.1 Kurva kalibrasi asam galat .....	79
H.2 Kadar polifenol total sampel .....	80
I. Kadar flavonoid total ekstrak daun sirsak .....	81
I.1 Kurva kalibrasi kuersetin .....	81
I.2 Kadar flavonoid total sampel.....	82
J. Analisis data .....	83
J.1 Analisis data aktivitas antioksidan .....	83

J.2 Analisis data kadar polifenol total .....	84
J.3 Analisis data kadar flavonoid total .....	86

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron tak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel, menginaktivasi enzim-enzim dan membahayakan komponen-komponen sel melalui pembentukan ikatan kovalen peroksidasi lipida sehingga menyebabkan kerusakan sel dan berimplikasi pada sejumlah penyakit, seperti aterosklerosis, iskemia, gangguan hati, gangguan syaraf, toksisitas logam, dan toksisitas pestisida (Baskar *et al.*, 2007; Widowati *et al.*, 2005). Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan untuk melawan radikal bebas.

Antioksidan berfungsi melindungi sel dari pengaruh radikal bebas. Antioksidan diperoleh dari dalam dan luar sel. Antioksidan yang diperoleh dari dalam sel yaitu superoksida dismutase, katalase, glutathion reduktase, dan glutathion peroksidase. Namun, ketika jumlah radikal bebas melebihi kemampuan pertahanan antioksidan tersebut, maka terjadi stres oksidatif pada tubuh sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar.

Selama ini, antioksidan sintetik sering digunakan karena dapat menetralkan radikal bebas namun dapat menimbulkan efek toksik, misalnya butil hidroksi toluen (BHT) diketahui dapat meningkatkan terjadinya efek karsinogenesis (Umemura *et al.*, 2001). Hal tersebut membuat para peneliti semakin berminat meneliti antioksidan alami, terutama yang berasal dari tanaman karena lebih aman daripada antioksidan sintetik dan mempunyai manfaat yang luas di bidang pengawetan pangan, kesehatan, kosmetik, dan pencegahan penyakit yang disebabkan radikal bebas (Sidik.,1997).

Salah satu tanaman yang menarik adalah sirsak (*Annona muricata*). Sirsak menarik karena mampu membunuh sel-sel ganas secara efektif pada 12 jenis kanker, meliputi kanker usus besar, payudara, prostat, dan pankreas, terbukti 10.000 kali lebih kuat menghambat sel kanker daripada Adriamicin, dan tidak seperti kemoterapi, senyawa yang diekstraksi dari pohon sirsak dapat membunuh sel kanker secara selektif sehingga tidak membahayakan sel-sel yang sehat. Sirsak banyak di jumpai di Indonesia. Khusus di Jember, terdapat dua produk

herbal, dengan bahan baku ekstrak daun sirsak, yaitu teh herbal daun sirsak jember dan kapsul prima daun sirsak sebagai anti kanker sehingga dapat dikatakan bahwa daun sirsak jember mempunyai potensi yang besar.

Selain sebagai anti kanker, tanaman ini juga bermanfaat, di antaranya sebagai antihipertensi, antidiabetes, antiinflamasi, antirematik, dan antioksidan (Joshi *et al.*, 2012; Usonomena, 2012; Baskar *et al.*, 2007; Adewole dan Ojewole, 2006). Baskar *et al.* (2007) melakukan uji aktivitas antioksidan pada daun sirsak. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan persentase peredaman DPPH sebanyak 88,77 % pada kadar 500 µg/ml dan menunjukkan IC<sub>50</sub> dengan kategori kuat pada kadar 70 µg/ml.

Selain uji aktivitas antioksidan, dilakukan pula penetapan kadar polifenol total dan flavonoid total pada daun sirsak. Pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan (termasuk metabolit sekunder) sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, salah satunya ketinggian tempat (Vanhaelen *et al.*, 1991; Evans, 2002). Mishra *et al.* (2011) meneliti aktivitas antioksidan dan fenol total pada *Capparis spinosa* yang diperoleh dari Skuru (3117 mdpl) hingga Tirchey (3159 mdpl). Berdasarkan penelitian tersebut, kadar fenol total ekstrak dari Skuru paling besar, yaitu 27,62 mg GAE/g berat kering, sedangkan kadar fenol total ekstrak dari Tirchey paling kecil, yaitu 21,42 mg GAE/g berat kering dan kadar flavonoid total ekstrak dari Skuru paling besar, yaitu 6,96 mg QE/g berat kering dan kadar flavonoid total ekstrak dari Tirchey paling kecil, yaitu 2,6 mg QE/g berat kering. Malnikova *et al.* (2013) juga meneliti kadar flavonoid *Fragaria vesca* pada ketinggian 780 dan 1100 mdpl. Berdasarkan penelitian tersebut, diperoleh hasil bahwa kadar flavonoid menurun dari dataran rendah ke dataran tinggi.

Meskipun demikian, belum ada penelitian tentang pengaruh lokasi tumbuh terhadap senyawa polifenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan daun sirsak sehingga belum terdapat penelitian yang mengarah pada standarisasi ekstrak daun sirsak yang berasal dari Jember. Oleh karena itu, diuji aktivitas antioksidan dan ditetapkan kadar polifenol dan flavonoid daun sirsak Jember di tiga lokasi pada ketinggian tanah berbeda, yaitu Kecamatan Ambulu (18 mdpl), Kecamatan Summersari (83 mdpl), dan Kecamatan Patrang (234 mdpl) (Pemkab Jember 2009, 2014; Salendra, 2011).

## **1.2 Permasalahan**

Berdasarkan uraian tersebut, permasalahan yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Adakah perbedaan aktivitas antioksidan daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda?
2. Adakah perbedaan kadar polifenol total daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda?
3. Adakah perbedaan kadar flavonoid total daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Pada penelitian ini, tujuan yang ingin dicapai adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antioksidan daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda.
2. Untuk mengetahui adanya perbedaan kadar polifenol total daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda.
3. Untuk mengetahui adanya perbedaan kadar flavonoid total daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat di antaranya: menambah pengetahuan masyarakat tentang manfaat daun sirsak sebagai antioksidan dan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman *Annona muricata*

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman (USDA, 2011)

Tanaman sirsak (*Annona muricata*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

#### 2.1.2 Nama Daerah

Tanaman sirsak mempunyai nama daerah atau nama lokal antara lain:

Sumatera : Deureuyan belanda (Aceh); tarutung olanda (Batak); durio ulondra (Nias); durian belanda, nangka belanda, nangka walanda (Melayu); durian bawati, duian bawati (Minangkabau); jambu landa (Lampung). Jawa : Nangkawalanda (Sunda); angka londa, nangka manila, nangka sabrang, mulwa londa, surikaya welonda, srikaya welandi (Jawa); nangka buris, nangka englan, nangka moris (Madura). Bali : Srikaya jawa. Nusa Tenggara : Naka, nakat, annona (Flores). Sulawesi : Atis, nangka walanda (Sulawesi Utara); lange lo walanda (Gorontalo); sirikaya balanda (Makassar); srikaya balanda (Bugis). Maluku : Anad walanda, tafena warata (Seram); anad wakano (Nusa laut); naka loanda (Buru); durian, naka wolada (Halmahera), naka walanda (Ternate); nada lada (Tidore) (Depkes RI, 1989).

#### 2.1.3 Daerah Tumbuh dan Penyebarannya

Sesungguhnya ada sekitar 60 spesies atau lebih genus *Annona*, famili Annonaceae tetapi hanya *Annona muricata* yang memiliki buah terbesar serta mudah

pemeliharaan dan pengolahannya. Pohon menahun yang daunnya selalu hijau dan berbunga tumbuh di Meksiko, Amerika Tengah, Carribean, dan Amerika Utara dan Selatan. Sekarang, tanaman ini juga tumbuh di beberapa area di Asia Tenggara seperti Malaysia dan Indonesia (Hasni, 2009).

Di daerah beriklim tropis misalnya Indonesia, sirsak umumnya dapat tumbuh di tanah semi kering pH 5,5–6,5 yang berdrainase baik, tanah asam dan tanah berpasir (yang mengandung kapur dan bahan organik tinggi) dengan ketinggian hingga 1000 mdpl, suhu 25°C–30°C, dengan curah hujan di atas 1000 mm (Orwa *et al.*, 2009). Suhu di bawah 5°C akan menyebabkan bahaya pada daun dan ranting sedangkan suhu di bawah 3 °C menyebabkan tumbuhan mati. Selain itu, sirsak tidak bisa mentoleransi air pasang karena memiliki akar yang pendek sehingga untuk tumbuh, sirsak tidak membutuhkan tanah yang sangat dalam (Hasni, 2009).

#### 2.1.4 Morfologi Daun Sirsak

Daun tunggal, warna kehijauan sampai hijau kecoklatan, tata letak berseling, tidak ada stipula (daun penumpu), tangkai daun berukuran  $\pm 0,7$  cm dengan bentuk bulat menggebu, helaian daun seperti kulit, berbentuk bundar panjang, lanset, atau bundar terbalik dengan panjang 6 cm hingga 18 cm dan lebar 2 cm hingga 6 cm, ujung daun meruncing, pangkal daun runcing, tepi rata, permukaan licin agak mengkilat, tulang daun menyirip, ibu tulang daun menonjol pada permukaan bawah, dan tulang-tulang daun pada helai daun sirsak berjumlah  $11 \pm 2,8$  (Depkes RI, 1989; Folorunso *et al.*, 2006; Okunomo *et al.*, 2010).

#### 2.1.5 Kandungan Senyawa dalam Daun Sirsak

Daun sirsak mengandung alkaloid (retikulin, coreksimin, koklarin dan anomurin) dan minyak atsiri ( $\beta$ -caryophyllene,  $\delta$ -cadinene, epi- $\alpha$ -kadinol dan  $\alpha$ -kadinol) (Sousa *et al.*, 2010). Selain itu, daun juga mengandung senyawa asetogenin, seperti annomurisin A and B, gigantetrosin A, annonasin-10-one, murikatetrosins A dan B, annonasin,

goniothalamisin, murikatosins A dan B, annonasin A, (2,4-*trans*)-isoannonasin, (2,4-*cis*)-isoannonasin, annomurisin C, murikatosin C, gigantetronenin, annomutasin, (2,4-*trans*)-10R-annonasin-A-one, (2,4-*cis*)-10R-annonasin-A-one, annopentosins A, B dan C, *cis*- dan *trans*-annomurisin-D-ones, annomurisin, murikapentosin, murikoreasin serta muriheksosin C dan annocatasin A serta Banomurisin A dan B (Sousa *et al.*, 2010). Selain asetogenin, daun juga mengandung karbohidrat 7,31 %, protein 8,6 %, saponin, tanin, vitamin C 66,6 %, vitamin E 6,68 %, fosfor 128 %, Besi 1,07 %, dan kalsium 3,00 % (Ramesh *et al.*, 2013), serta mengandung flavonoid seperti: kuersetin, katekin, epikatekin, asam klorogenat, dan kaempferol (Nawwar *et al.*, 2012).

#### 2.1.6 Manfaat Daun Sirsak

Ekstrak daun menurunkan kenaikan tekanan darah dengan menurunkan resistensi pembuluh darah tepi (Joshi *et al.*, 2012). Daun digunakan untuk pusing, insomnia, sistitis, masalah hati, diabetes, dan sebagai antibakteri, antiinflamasi, sedatif, antispasmodik, relaksan otot polos, dan nervine melawan berbagai sel kanker, serta antidisentri. Dekoksi daun membunuh parasit, antirematik, dan antineuralgik saat digunakan secara internal, sedangkan daun yang dimasak dan diaplikasikan secara topikal dapat mengurangi reumatik dan abses, memiliki sifat sitotoksik, melawan sel tumor, anti molluscisida, dan juga mempunyai sifat antioksidan (Usonomena, 2012; Adewole dan Ojewole, 2006; Baskar *et al.*, 2007).

## 2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan spesies kimia, atom, atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tak berpasangan dalam orbital luarnya dan mampu berada dalam keadaan bebas. Radikal bebas mempunyai jumlah elektron ganjil, yang membuatnya tidak stabil dan sangat reaktif sehingga dapat bereaksi secara cepat dengan senyawa lain, dengan cara mencoba mengambil elektron untuk menstabilkan diri. Umumnya radikal bebas menyerang molekul stabil terdekatnya, mengambil elektron. Saat molekul yang diserang kehilangan



elektron, molekul tersebut akan menjadi radikal bebas itu sendiri, dan memulai reaksi rantai yang menyebabkan gangguan kehidupan sel (Tandon *et al.*, 2005).

Tandon *et al.* (2005) menyatakan bahwa radikal bebas terbentuk dari berbagai sistem biologi dan kimia, meliputi pembentukan plastik, penuaan, pembakaran bahan bakar, dan dalam tubuh manusia. Reaksi pembentukan radikal bebas yaitu:

- a) Pemutusan ikatan kovalen atom atau molekul normal.

Atom berikatan bersama saat keduanya mentransfer elektron untuk membentuk molekul. Ikatan kovalen terbentuk saat sepasang elektron saling berbagi. Pemecahan ikatan terjadi melalui dua cara yaitu pemutusan homolitik. Dalam tipe ini pemutusan kedua atom menahan masing-masing satu elektron akibat putusnya ikatan secara simetris sehingga terbentuk dua fragmen yang mengandung satu elektron tak berpasangan. Inilah yang disebut sebagai radikal bebas misalnya  $\text{H-H} \longrightarrow \text{H} + \text{H}$ . Tipe pemutusan tersebut membutuhkan energi yang tinggi. Suhu tinggi, radiasi UV atau ion menyebabkan homolisis ikatan kovalen. Jenis pemutusan yang lain yaitu pemutusan heterolitik. Pemutusan jenis ini menahan ikatan elektron dan yang lain mengambil elektron sehingga terbentuk spesies ionik.

- b) Transfer elektron merupakan sumber penting generasi radikal bebas dalam sistem biologis. Transfer elektron terjadi melalui dua reaksi yaitu:

- i. Reaksi oksidasi : Kehilangan elektron tunggal dari molekul normal
- ii. Reaksi reduksi : Penambahan elektron ke dalam molekul normal.

Radikal bebas paling sederhana adalah atom elemen hidrogen, dengan satu proton dan satu elektron. Contoh radikal yang berpusat pada O adalah superoksida dan hidroksil. Radikal yang berpusat pada sulfur adalah radikal tiol. Radikal yang berpusat pada karbon adalah triklorometil, dan nitrit oksida adalah radikal bebas yang elektron tak berpasangannya didelokalisisasi antara dua atom berbeda (Halliwell, 2001).

Radikal dapat ditambahkan bersama, misal atom hidrogen membentuk diatom hidrogen.

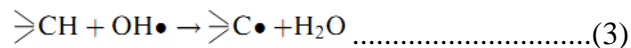


Dan superoksida bereaksi dengan nitrit oksida

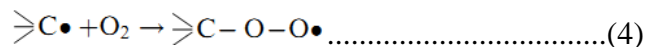


Dalam semua kasus, nonradikal dibentuk. Ini biasanya kurang reaktif daripada radikal induk (misal H<sub>2</sub> kurang reaktif daripada H●) tetapi tidak selalu demikian. Misalnya ONOO<sup>-</sup> lebih berbahaya pada jaringan manusia daripada O<sub>2</sub>● atau NO● (Halliwell, 2001).

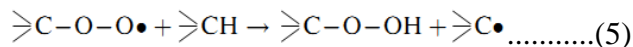
Kebanyakan molekul biologis adalah nonradikal. Saat radikal bebas bereaksi dengan nonradikal, terbentuk radikal bebas baru. Misalnya, OH● bereaksi dengan hidrokarbon (meliputi rantai samping asam lemak membran lipida) menjadi abstrak H● dan meninggalkan radikal yang berpusat pada karbon (Halliwell, 2001).



Proses ini dapat memulai reaksi peroksidasi lipida rantai radikal bebas. Radikal bebas reaktif seperti OH● abstrak hidrogen dari rantai samping asam lemak di atas, menghasilkan radikal yang berpusat pada karbon bereaksi dengan oksigen (Halliwell, 2001).

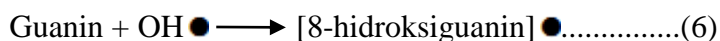


Radikal peroksil menyerang membran protein dan juga menyerang rantai samping asam lemak yang berdekatan.



Radikal C● bereaksi dengan O<sub>2</sub> untuk membentuk radikal peroksil yang lain dan reaksi rantai berlanjut. Maka, serangan OH● tunggal dapat menyebabkan oksidasi banyak rantai samping asam lemak menjadi lipid hidroperoksida. Rantai samping asam lemak tak jenuh yang penting terhadap fluiditas membran paling rentan terhadap serangan radikal bebas dan peroksidasi lipida (Halliwell, 2001).

Contoh berbeda, OH● berikatan dengan basa purin guanin dalam DNA, membentuk radikal 8-hidroksiguanin.



ROS (*Species Oxygen Reactive*)

Radikal bebas paling penting dalam sistem biologis merupakan derivat oksigen. Oksigen dibutuhkan untuk mentransfer berbagai zat untuk pelepasan energi dan detoksifikasi

xenobiotik. Selama proses tersebut, oksigen berperan sebagai aseptor elektron terminal dan dikonversi menjadi senyawa yang lebih stabil. Misalnya H<sub>2</sub>O. Pada reduksi ini, 1 molekul O membutuhkan 4 elektron. Jenis reduksi ini dikenal sebagai reduksi transvalen oksigen menjadi air (Tandon *et al.*, 2005).

Reduksi univalen dan interkonversi ROS yang mungkin adalah sebagai berikut:

1.  $O_2 + \bar{e} \longrightarrow O_2^{\cdot -}$  (anion radikal bebas superoksida)
2.  $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ + \bar{e} \longrightarrow H_2O_2$  (hidrogen peroksida) +  $O_2$
3.  $H_2O_2 + H^{++} + \bar{e} \longrightarrow OH^{\cdot}$  (radikal bebas hidroksil) +  $H_2O$
4.  $OH^{\cdot} + \bar{e} + H^+ \longrightarrow H_2O$
5. Reaksi fenton:  
 $H_2O_2 + Fe^{3+} \longrightarrow OH^{\cdot}$  (radikal bebas hidroksil) +  $OH^- + Fe^{2+}$
6. Reaksi Haber Weiss:  
 $O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^{\cdot}$  (radikal bebas hidroksil) +  $OH^-$
7.  $OH^{\cdot} + O_2^{\cdot -} + H^+ + \bar{e} \longrightarrow O_2$  (oksigen tunggal) +  $H_2O$
8. Autooksidasi transisi metal tereduksi  
 $Fe^{2+} + O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot -}$  (radikal bebas superoksida)  
 $O_2 + 4 e + 4 H^+ \longrightarrow H_2O$

Bagaimanapun, reaksi tertentu memperbolehkan reduksi ini terjadi melalui serangkaian reaksi reduksi univalen yang membutuhkan elektron tunggal sehingga menghasilkan serangkaian radikal reaktif dan nonradikal yang dikenal sebagai ROS. ROS meliputi radikal bebas dan nonradikal seperti OH dan O tunggal. ROS ini dapat menghasilkan bahaya oksidatif terhadap jaringan dan dikenal sebagai oksidan dalam sistem biologis (Tandon *et al.*, 2005).

Tandon *et al.* (2005) menyatakan bahwa terdapat dua sumber penting generasi ROS dalam sistem biologis, yaitu:

1. Metabolisme sel

Contoh: transpor elektron mitokondria, oksidasi retikulum endoplasma, sintesis prostaglandin, autooksidasi adrenalin, tiol, dan asam askorbat, Riboflavin, FMNH<sub>2</sub>,

dan  $\text{FADH}_2$  tereduksi, nitrit oksida sintetase, sel fagosit teraktivasi, neutrofil terstimulasi, luka reperfusi, sitokrom P450, dan aktivitas enzim seperti NADPH oksidase, xantin oksidase, monoamine oksidase, tirosin hidroksilase, L-amino oksidase, diamin oksidase, glikolat oksidase,  $\alpha$ -asam hidroksi oksidase, dan L-glukonolakton oksidase.

## 2. Lingkungan

Contoh:

Obat: Haloten, Parasetamol, Bleomisin, Dokсорubisin, Metronidazol, Etanol,  $\text{CCl}_4$ , Pestisida, logam transisi (Cu, Fe), rokok, alkohol, radiasi: sinar X, radiolisis air, dan suhu tinggi.

ROS yang diketahui dalam sistem biologis:

### 1. Anion radikal bebas superoksida

ROS paling umum terbentuk oleh proses kimia dan enzimatis. Sumber utama anion superoksida merupakan kebocoran elektron dari berbagai komponen rantai transport elektron sel. Ini terbentuk dalam hampir semua sel aerob. Anion radikal bebas superoksida dapat menghasilkan efek toksik baik secara langsung maupun tidak langsung dengan menghasilkan ROS yang lain. Reaksi ini dengan NO mempunyai peran fisiologis.

### 2. Hidrogen peroksida

Hidrogen peroksida bukan termasuk radikal bebas karena tidak mempunyai elektron tak berpasangan maka hidrogen peroksida sangat lambat tetapi sebagai oksidator kuat, ia mengikutsertakan pembentukan radikal hidroksil dan dapat melewati membran biologis. Meskipun demikian, ia tidak mempunyai efek langsung terhadap DNA tetapi dapat berbahaya terhadap DNA oleh konversi ion logam menjadi radikal OH sangat reaktif dan secara tidak langsung mengakibatkan mutasi dan karsinogenesis.

### 3. Radikal bebas hidroksil

Radikal ini termasuk radikal bebas paling reaktif dalam sistem biologis yang umumnya dibentuk dari OH oleh reaksi yang dikatalisis logam. Produksi OH

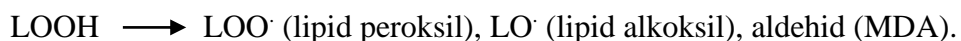
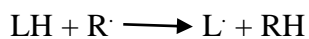
pada DNA akan menyebabkan modifikasi purin dan pirimidin atau perusakan untai DNA. Hal ini juga menyebabkan peroksidasi lipida kromosom mitokondria dan membran sel.

#### 4. Oksigen tunggal

Ini juga bukan radikal bebas dan dibentuk sebagai hasil pembalikan spin elektron dalam orbital terluar molekul oksigen. Ia dianggap okidan yang sangat poten dengan waktu paruh singkat menyebabkan bahaya jaringan.

#### 5. Lipid peroksida

Saat asam lemak tak jenuh (PUFA) diserang oleh radikal bebas (menginisiasi oksidasi radikal). Oksidasi PUFA membentuk radikal asam lemak yang secara cepat menambahkan oksigen sehingga membentuk asam radikal peroksil (LOO), yang merupakan pembawa reaksi rantai. Mereka dapat mengoksidasi molekul PUFA lanjutan untuk menghasilkan LOOH (lipid hidroperoksida) yang dapat memecah lebih banyak spesies radikal reaktif seperti lipid peroksil, lipid alkoksil, dan aldehid, seperti malondialdehid (MDA). Fenomena destruksi oksidatif PUFA dikenal sebagai peroksidasi lipida. Metabolik ini oleh produk dapat menyebabkan destruksi langsung struktur membran atau secara tidak langsung dapat membahayakan struktur lain sel. Misal DNA, RNA, sintesis protein dan enzim utamanya oleh aldehid seperti MDA (malondialdehid). Semua mekanisme yang dijelaskan oleh MDA bersifat mutagenik, genotoksik, dan karsinogenik.



#### 6. Lainnya: seperti radikal bebas alkoksil (LO), radikal bebas peroksil (LOO), radikal tiol (RS), merupakan beberapa ROS yang lain.

Selain ROS, juga terdapat RNS (spesies nitrogen reaktif), seperti yang tertera dalam Tabel 2.1. Beberapa spesies nitrogen reaktif kurang reaktif daripada yang lain, misalnya  $\text{O}_2$  ● dan  $\text{NO}$  ● bereaksi secara langsung dengan beberapa molekul dalam tubuh manusia,

meskipun OH● dapat bereaksi dengan apapun. Saat dibentuk secara *in vivo*, OH● akan bereaksi dengan sisi pengikatannya (Halliwell, 2001) .

Tabel 2.1. Spesies oksigen reaktif golongan radikal dan nonradikal

Spesies Oksigen Reaktif	
Radikal	Nonradikal
Superoksida, (O <sub>2</sub> ● <sup>-</sup> )	Hidrogen peroksida, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hidroksil, (OH●)	Asam hipoklorit, HOCl
Peroksil, RO <sub>2</sub> ● <sup>-</sup>	Asam hipobromida, HOBr
Alkoksil, RO●	Ozon, O <sub>3</sub>
Hidroperoksil, HO <sub>2</sub> ●	Oksigen tunggal
Spesies Nitrogen Reaktif	
Radikal	Nonradikal
Nitrit oksida, NO●	Asam nitrit, HNO <sub>2</sub>
Nitrogen dioksida, NO <sub>2</sub> ●	Kation nitrosil, NO <sup>+</sup>
	Anion nitrosil, NO <sup>-</sup>
	Dinitrogen tetroksida, N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
	Dinitrogen trioksida, N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>
	Asam peroksinitrit, ONOOH
	Kation nitronium, NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
	Alkil peroksinitrit, ROONO

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron sedangkan dalam pengertian biologis, antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species*. Selain itu, antioksidan mencegah oksidasi senyawa kimia lain dan melindungi kunci komponen sel dengan menetralisasi efek bahaya radikal bebas yang merupakan produk alami metabolisme sel (Badarinath *et al.*, 2010; Widowati *et al.*, 2005). Tubuh memiliki sistem antioksidan tubuh yang berfungsi untuk melindungi sel dari serangan radikal bebas, baik yang berasal dari hasil metabolisme sel maupun yang berasal dari lingkungan. Antioksidan tersebut secara alami telah ada di dalam tubuh, yakni: SOD (superoksida dismutase), GPX (glutation peroksidase), CAT (katalase), dan GST (glutation-S-transferase). Meskipun demikian, bila produksi radikal bebas dalam tubuh terus meningkat karena pengaruh eksternal diantaranya xenobiotik atau meningkatnya konsumsi makanan yang mengandung asam lemak tak jenuh, maka sistem pertahanan antioksidan

tubuh tidak akan efektif melindungi sel dari serangan radikal bebas sehingga terjadi stres oksidatif, untuk mencegah terjadinya stres oksidatif maka diperlukan suplemen antioksidan yang berasal dari makanan seperti  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, vitamin c, ubiquinol dan flavonoid. Antioksidan menyebabkan resistensi terhadap stres oksidatif dengan meredam radikal bebas, menghambat peroksidasi lipida, dan mekanisme lain sehingga dapat mencegah penyakit (Ahalya *et al.*, 2013). Jadi, antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun meniadakan efek radikal bebas. Kekurangan salah satu komponen tersebut akan menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan secara menyeluruh dan berakibat pada melemahnya perlindungan tubuh terhadap serangan radikal bebas yang berarti rentan terhadap berbagai penyakit (Widowati *et al.*, 2005).

Rathore *et al.* (2010) mengklasifikasikan antioksidan berdasarkan dua parameter, yaitu:

1. Berdasarkan kelarutan:

- (a). Antioksidan hidrofilik: Antioksidan ini mudah larut dalam air. Antioksidan larut air beraksi dengan oksidan dalam sitoplasma sel dan plasma darah.
- (b). Antioksidan hidrofobik: Antioksidan ini larut dalam lemak. Antioksidan larut lemak melindungi membran sel dari peroksidasi lipid.

2. Berdasarkan sifat kerja:

- (a). Antioksidan preventif: Antioksidan preventif merupakan enzim seperti SOD (superoksida dismutase), CAT (katalase), GPX (glutathion peroksidase), glutathion reduktase dan beberapa mineral seperti Se, Mn, Cu, dan sebagainya. SOD utamanya berperan sebagai peredam superoksida ( $O_2$ ), katalase berperan sebagai katalis dekomposisi  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen. GPX mengkatalisis reduksi  $H_2O_2$  dan lipid peroksida selama peroksidasi lipida menjadi air menggunakan glutathion tereduksi sebagai substrat.
- (b). Antioksidan peredam radikal: Antioksidan ini meliputi glutathion, vitamin C, asam urat, albumin, bilirubin, vitamin E, karotenoid, flavonoid, dan sebagainya.  $\beta$ -karoten adalah penangkal oksigen tunggal yang sangat baik. Vitamin C berinteraksi secara langsung

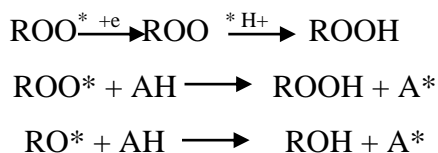
dengan radikal seperti  $O_2$ , OH. GSH adalah penangkal yang baik terhadap banyak radikal seperti  $O_2$ , OH, dan berbagai lipid hidroperoksida, dan membantu mendetoksifikasi banyak polusi udara teroksidasi yang terhirup seperti ozon.

- (c). Perbaikan dan enzim *de novo*: Antioksidan ini merupakan gugus kompleks enzim untuk memperbaiki kerusakan DNA, protein, lipid teoksidasi dan peroksida, serta juga menghentikan propagasi rantai radikal lipid peroksil. Enzim-enzim ini memperbaiki kerusakan biomolekul dan merekonstitusi membran sel yang rusak.

Widowati *et al.* (2005) mengklasifikasikan antioksidan berdasarkan tiga parameter, yaitu: mekanisme kerja, pembentukan dan asalnya, serta jenis. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi dua golongan, yakni:

#### 1. Antioksidan primer

Antioksidan ini bekerja sebagai pemutus reaksi berantai, bereaksi dengan radikal lipid mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, dan sebagai antioksidan preventif dengan mengurangi kecepatan reaksi inisiasi, mencegah autooksidasi lipid melalui pemberian atom hidrogen yang cepat kepada radikal lipid. Antioksidan yang termasuk golongan ini adalah fenolik seperti BHA (*butylated hydroxyanisole*), TBHQ (*tertiary butyl hydroquinone*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), senyawa alami flavonoid.



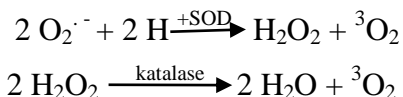
Gambar 2.1 Mekanisme Antioksidan Primer

#### 2. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini bekerja memperlambat laju autooksidasi melalui berbagai mekanisme yaitu melalui pengikatan ion logam, penangkapan oksigen, penguraian hiperoksida menjadi produk nonradikal, penyerapan radiasi UV, deaktivasi singlet oksigen. Antioksidan yang termasuk golongan ini adalah asam askorbat, askorbil palmitat, asam eritorbat, natrium eritorbat sebagai antioksidan sekunder untuk menstabilkan produk pangan dan pakan berlemak.



Pada sistem biologi berbagai macam radikal bebas akan berperan dalam oksidasi lipid, radikal superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) yang dihasilkan oleh xanthine oksidase dan hidrogen peroksida dapat diubah oleh enzim SOD (superoksida dismutase), enzim katalase berperan penting dalam mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.



Gambar 2.2 Mekanisme Antioksidan Sekunder

Berdasarkan pembentukan dan asalnya antioksidan dalam tubuh makhluk hidup digolongkan menjadi dua golongan yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang secara alami terdapat dalam tumbuhan, hewan, dan manusia, baik intraselular maupun ekstraselular. Antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang ditambahkan dari luar. Produk makanan sering ditambahkan antioksidan untuk menghambat kerusakan oksidatif sedangkan hewan dan manusia sering mengkonsumsi antioksidan untuk menghambat terjadinya stres oksidatif (Widowati *et al.*, 2005).

Berdasarkan jenisnya, antioksidan dibagi menjadi dua golongan, yakni: antioksidan sintetik yaitu antioksidan buatan manusia dan berguna untuk lemak, minyak, dan lipida yang terkandung di dalam makanan, misalnya BHA, BHT, etoksikuin, galat, dan TBHQ dan antioksidan alami yaitu antioksidan yang berasal dari bagian-bagian tanaman dan berguna untuk mencegah oksidasi dan polimerisasi asam lemak tak jenuh (Widowati *et al.*, 2005)

Akhir-akhir ini penelitian tentang antioksidan alami khususnya berasal dari tumbuhan semakin diminati karena lebih aman daripada antioksidan sintetik. Selain itu, antioksidan alami memiliki manfaat yang luas di bidang pengawetan pangan, kesehatan, kosmetik, dan pencegahan penyakit yang disebabkan radikal bebas (Sidik, 1997).

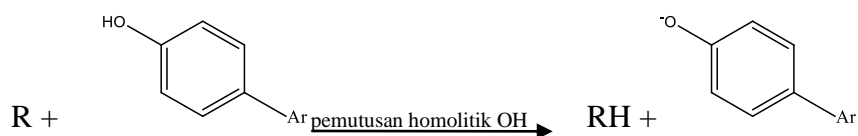
## 2.4 Polifenol dan Mekanisme Antioksidan

Polifenol adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Polifenol larut dalam metanol, etanol, aseton, etil asetat, dan kombinasinya, seringkali dengan proporsi air yang berbeda. Senyawa polifenol meliputi fenol, asam fenol, tanin, lignan, dan flavonoid (Mumper dan Dai, 2010).

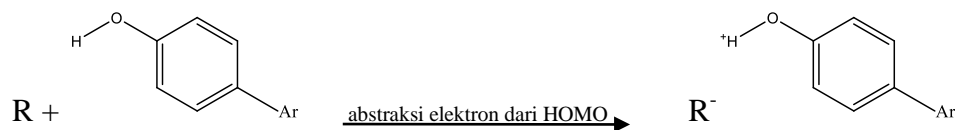
Polifenol berperan dalam memberi warna pada suatu tumbuhan seperti warna daun saat musim gugur. Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran serta biji-bijian. Rata-rata manusia mengkonsumsi polifenol dalam sehari sampai 23 mg. Khasiat dari polifenol adalah menurunkan kadar gula darah dan efek melindungi terhadap berbagai penyakit seperti kanker. Polifenol membantu melawan pembentukan radikal bebas dalam tubuh sehingga dapat memperlambat penuaan dini (Arnelia, 2002).

Russo *et al.* (2011) menyatakan bahwa basis molekul untuk sifat antioksidan polifenol dikenal dalam tiga mekanisme utama, yang timbul dari reaksi langsung dengan radikal bebas dan dari kompleksasi logam bebas pembentuk radikal bebas (dapat dilihat pada Gambar 2.3).

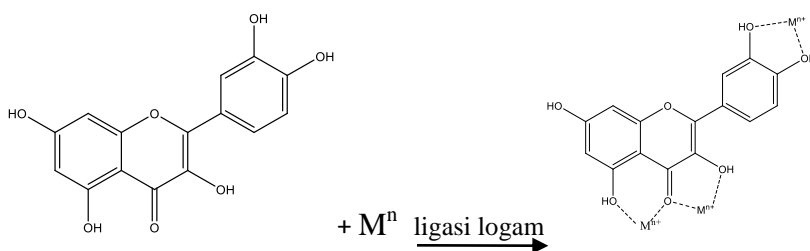
### 1. Transfer atom hidrogen



### 2. Transfer elektron tunggal



### 3. Kompleksasi logam transisi



Gambar 2.3 Mekanisme polifenol sebagai antioksidan (Russo *et al.*, 2011)

Sebagai antioksidan primer, polifenol menginaktivasi radikal bebas berdasarkan pada mekanisme transfer atom hidrogen, dan pada mekanisme transfer elektron tunggal. Pada mekanisme pertama, antioksidan ArOH bereaksi dengan radikal bebas, R, oleh transfer atom hidrogen melalui putusya homolitik ikatan O–H. Hasil reaksi tersebut merupakan spesies RH yang kurang merugikan dan radikal ArO teroksidasi. Bahkan jika reaksi menyebabkan pembentukan radikal lain, maka akan kurang reaktif dengan R karena distabilisasi oleh beberapa faktor. Pada mekanisme kedua, antioksidan ArOH menyediakan satu elektron untuk diberikan pada R melalui abstraksi elektron dari HOMO. Hasil tersebut merupakan R<sup>•</sup> dan radikal ArOH<sup>•</sup>.

OH umumnya diterima sebagai radikal paling reaktif. Radikal ini mempunyai waktu paruh yang sangat singkat (sekitar 10<sup>-9</sup> detik) dan mempunyai reaktivitas yang sangat tinggi. Berkenaan dengan hidroperoksida yang dimetabolisme oleh superoksida dismutase, radikal hidroksil tidak dapat dieliminasi oleh reaksi enzimatik sehingga radikal hidroksil akan bereaksi dengan tiap jenis substrat yang dimasuki (Russo *et al.*, 2011).

Logam transisi seperti tembaga, mangan, kobalt, mampu mengkatalisis reaksi ini, di bawah kondisi tertentu saat ion logam tersebut tidak terikat oleh protein atau khelator. Reaksi Fenton terjadi dan menyebabkan akumulasi radikal bebas pada sisi spesifik dan menginisiasi bahaya biomolekul. Reaksi fenton terjadi dalam jaringan syaraf neuron dopamin, yang pada normalnya katabolisme dopamin menghasilkan beberapa level hidrogen peroksida. Akumulasi radikal bebas dalam neuron ini mungkin dikenali sebagai penyebab penyakit parkinson. Penyakit neurodegeneratif lain, seperti penyakit Alzheimer dan *Huntington's chorea*, mempunyai tanda signifikan yang meningkat dalam besi di beberapa daerah otak. Kandungan besi ferritin Ganglia basal ditingkatkan dalam pasien yang dipengaruhi alzeimer, padahal besi ditemukan dalam konsentrasi lebih tinggi dalam *substantia nigra pars compacta* pada pasien parkinson. Ini telah dimaksudkan bahwa radikal hidroksil dan Fe(III) dibentuk melalui reaksi Fenton yang menghitung peningkatan ion *ferric* dan spesies oksigen reaktif dalam zona-zona di otak (Russo *et al.*, 2011).

Logam-khelator menghilangkan logam dan dapat mengubah potensial redoks yang membuat logam inaktif. Dengan demikian, penggunaan khelator logam alami seperti

flavonoid sebaiknya dapat menggantikan khelator sintetik lain yang menyebabkan beberapa masalah toksisitas. Flavonoid dengan banyak gugus hidroksil dan gugus karbonil pada posisi 4 di cincin C memberikan beberapa sisi yang tersedia untuk kompleksasi logam (Russo *et al.*, 2011).

## 2.5 Flavonoid dan Mekanisme Antioksidan

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berada dalam kebanyakan tanaman dengan keanekaragaman struktur, sebagai lebih dari 8000 flavonoid yang telah dikarakterisasi. Flavonoid dan glikosidanya berperan sebagai antioksidan hidrofilik, antimikroba, fotoreseptor, penyerang visual, repellan, dan sebagai penyaring sinar UV dan substrat untuk polifenol oksidase yang melindungi jaringan setelah terjadi bahaya pada tumbuhan. Dilaporkan bahwa flavonoid berperan pada sebagian manfaat kesehatan terkait dengan konsumsi sayuran dan buah. Flavonoid dibangun pada skeleton flavon C6-C3-C6 dimana dua cincin aromatik dihubungkan oleh tiga karbon yang tersiklik oleh oksigen. Akibat potensial redoksnya rendah ( $0.2 < E_0 < 0.8$ ), secara termodinamika flavonoid mampu mereduksi kebanyakan radikal bebas oksidator yang berhubungan dengan sistem biologis seperti superoksida, peroksil, alkoksil, dan radikal hidroksil (Han *et al.*, 2012).

Uji kapasitas antioksidan utamanya mengklasifikasikan flavonoid sebagai peredam melalui transfer elektron atau melalui transfer atom hidrogen. Umumnya, ada dua kemungkinan antioksidan fenol bereaksi dengan radikal bebas ( $R\bullet$ ): (i) tahap pertama yaitu transfer atom hidrogen atau), (ii) transfer elektron yang diikuti oleh transfer proton. Pada pH lebih tinggi, saat fenol terdeprotonasi, hanya mekanisme transfer elektron saja yang mungkin. Bentuk fenolat mempunyai potensi peredaman radikal yang lebih besar daripada bentuk fenol induk sehingga memberikan potensial redoks lebih rendah. Pada kebanyakan reaksi peredaman fenol itu sendiri tidak jelas apakah reaksi antara antioksidan fenol dan radikal reaktif terjadi melalui satu tahap, yaitu transfer hidrogen melalui transfer elektron inisial (Han *et al.*, 2012).

## 2.6 Ekstraksi Polifenol dan Flavonoid

Hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidan ekstrak dari tanaman sangat bergantung pada polaritas solven, yang menentukan senyawa antioksidan yang terekstraksi, baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Hasil tertinggi biasanya dicapai dengan etanol dan metanol beserta campurannya dengan air, meskipun pelarut lain telah digunakan dalam ekstraksi polifenol dan flavonoid dari tanaman, seperti etil asetat atau aseton. Air dan etanol paling sering digunakan karena toksisitas rendah dan hasil ekstraksi tinggi, dengan keuntungan modulasi polaritas pelarut oleh penggunaan campuran pelarut etanol/air pada rasio berbeda. Kerugian utama ekstraksi air adalah hasilnya rendah dalam antioksidan dengan polaritas rendah atau antioksidan larut lemak, misal karotenoid (Sineiro *et al.*, 2008). Oleh karena itu, dipilih etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi polifenol.

## 2.7 Metode Peredaman Radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH)

Molekul DPPH dikarakterisasi sebagai radikal bebas stabil berdasarkan delokalisasi elektron bebas sehingga molekul tidak terdimerisasi, seperti pada radikal bebas yang lain. Metode perangkap radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) akan memberi hasil yang baik dengan menggunakan pelarut metanol atau etanol dan kedua pelarut ini tidak mempengaruhi dalam reaksi antara sampel uji sebagai antioksidan dengan DPPH sebagai radikal bebas (Molyneux, 2004).

Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) yang digunakan dalam pengukuran sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur panjang gelombang maksimum untuk DPPH antara lain 515 nm, 516 nm, 517 nm, 518 nm, 519 nm dan 520 nm. Apabila pengukuran menghasilkan tinggi puncak maksimum, maka itulah panjang gelombangnya yaitu sekitar panjang gelombang yang disebutkan di atas (Molyneux, 2004).

Lamanya pengukuran menurut literatur yang direkomendasikan adalah selama 60 menit, tetapi dalam beberapa penelitian waktu yang digunakan sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, 30 menit dan 60 menit. Waktu reaksi yang tepat adalah ketika reaksi sudah mencapai kesetimbangan. Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh sifat dari aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sampel (Molyneux, 2004).

## 2.8 Polifenol total

Reaksi kolorimetri secara luas digunakan dalam metode spektrofotometri UV/VIS karena mudah dilakukan, cepat, dan dapat diaplikasikan dalam laboratorium, dan biayanya murah. Bagaimanapun, penting bahwa uji kolorimetri membutuhkan zat standar, kemudian metode ini mengukur konsentrasi gugus golongan hidroksil dalam ekstrak tanaman. Polifenol dalam ekstrak tanaman bereaksi dengan reagen redoks (reagen Folin-Ciocalteu) untuk membentuk kompleks biru yang dapat dikuantifikasi oleh spektrofotometer UV/VIS. Reaksi membentuk kromofor biru yang disebabkan oleh kompleks fosfotungsten-fosfomolibdenum (absorpsi maksimum kromofor bergantung pada larutan basa dan konsentrasi senyawa fenolat). Bagaimanapun, reagen ini secara cepat terdekomposisi dalam larutan basa, yang membuatnya perlu untuk menggunakan kelebihan yang sangat banyak untuk mendapatkan reaksi yang sempurna. Kelebihan ini dapat dihasilkan dalam bentuk endapan dan kekeruhan sehingga membuat analisis spektrofotometri tidak mungkin dilakukan. Oleh karena itu, reagen Folin-Ciocalteu yang berisi garam litium mencegah kekeruhan terjadi. Reaksi yang dihasilkan menghasilkan data yang akurat dan spesifik untuk beberapa kelompok senyawa fenol, karena banyak senyawa yang berubah warna akibat perbedaan massa unit dan reaksi kinetik. Selain menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, polifenol total dapat diukur dan dikarakterisasi menggunakan HPLC, GC, dan KLT namun data yang diperoleh kurang akurat akibat adanya senyawa polifenol yang tidak dideteksi sehingga reagen Folin-Ciocalteu lebih dipilih untuk mengukur kadar polifenol total (Melo *et al.*, 2013).

## 2.9 Flavonoid Total

Kadar flavonoid dapat diperoleh menggunakan dua metode. Metode pertama merupakan metode kolorimetri menggunakan aluminium klorida dan berdasarkan pada pembentukan kompleks antara Aluminium klorida dengan gugus keton C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 kelompok flavon dan flavonol yang menghasilkan warna kuning. Selain itu, juga membentuk kompleks asam labil dengan gugus orto-dihidroksil dalam cincin A atau B flavonoid. Kuersetin dilaporkan sesuai untuk membuat kurva kalibrasi sehingga larutan standar kuersetin berbagai konsentrasi digunakan untuk membuat kurva kalibrasi

(Ibrahim *et al.*, 2011). Metode kedua merupakan metode kolorimetri dengan DNP (*2,4-dinitrophenylhydrazine*). Prinsip metode ini adalah reagen *2,4-dinitrophenylhydrazine* yang bereaksi dengan karbonil keton dan aldehyd untuk *2,4-dinitrophenylhydrazone* sehingga menghasilkan warna merah (Flach *et al.*, 2014). Metode kolorimetri menggunakan Aluminum klorida dipilih karena sederhana, cepat, dan mudah dilakukan.

## **BAB 3.METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak merupakan *true experimental laboratories*.

### **3.2 Definisi Operasional**

Definisi operasional dari penelitian ini adalah:

1. Lokasi pengambilan sampel di dataran rendah, adalah Desa Pontang, Kecamatan Ambulu; di dataran sedang adalah Desa Summersari, Kecamatan Summersari; dan di dataran tinggi adalah Desa Jumerto, Kecamatan Patrang.
2. Daun sirsak yang digunakan adalah daun yang diambil dari pohon yang telah tua mulai dari daun no 5 dari pucuk sampai no 3 dari pangkal.
3. Ekstrak daun sirsak adalah ekstrak yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia daun sirsak dengan etanol 96 %.
4. IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi efektif ekstrak daun sirsak untuk meredam larutan DPPH sebanyak 50 %.

### **3.3 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi, Kimia Farmasi, dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai Bulan Juni 2013 sampai Bulan September 2014.

### **3.4 Bahan dan Alat yang Digunakan serta Otentikasi Tanaman**

#### **3.4.1 Bahan**

Daun sirsak yang diperoleh dari tiga lokasi di Kabupaten Jember pada ketinggian tempat berbeda, DPPH (Sigma-Aldrich), reagen Folin-ciocalteau (Merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>



(Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), kuersetin (Sigma-Aldrich), etanol p.a (Sigma-Aldrich), dan etanol 96 % (Sigma-Aldrich).

#### 3.4.2 Alat

Neraca analitik, alat-alat gelas, *ball pipet*, *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), maserator, mikropipet (Socorex), kuvet *disposable* 1,5 ml, dan *spectro UV-Vis double beam PC scanning spectrophotometer* (UVD-2950).

#### 3.4.3 Pengumpulan dan Otentikasi Bahan Tanaman

Daun sirsak dikumpulkan dari tiga lokasi yang berbeda ketinggian tempat (18 m, 83 m, dan 234 m di atas permukaan laut) selama bulan April hingga Mei. Identifikasi taksonomi bahan tanaman dilakukan di Herbarium Jemberiense, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan Serbuk Daun Sirsak

Daun tua dari tiga lokasi diambil dan diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia kering diblender menjadi serbuk.

#### 3.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Serbuk daun sirsak 350 gram dimaserasi menggunakan etanol 96 % sebanyak 1750 ml selama tiga hari. Filtrat dikumpulkan lalu pelarut diuapkan dengan rotavapor pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak etanol kental.

#### 3.5.3 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol kental ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 100 mg kemudian ditambahkan dengan etanol p.adalam labu ukur 10 ml hingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10.000 µg/ml. Setelah itu, larutan induk dipipet sebanyak 1 ml

kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 ml hingga diperoleh 1000  $\mu\text{g/ml}$ , kemudian larutan 1000  $\mu\text{g/ml}$  diencerkan hingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 40, 80, 120, 160, 200, dan 240  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 3.5.4 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Asam galat standar ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 5,0 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sampai 10 ml sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 500  $\mu\text{g/ml}$ . Setelah itu, larutan induk dipipet sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 25 ml hingga diperoleh 20  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan 20  $\mu\text{g/ml}$  diencerkan hingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi 2;4;6; 8; dan 10  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 3.5.5 Pembuatan larutan DPPH

Menimbang DPPH kristal dengan neraca analitik sebanyak 20,0 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sampai 100 ml dan diperoleh DPPH dengan konsentrasi 0,02%. Setelah itu, dipipet 2 ml kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 ml hingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,004%. Larutan ini harus segera digunakan dan dijaga pada temperatur rendah serta terlindung dari cahaya.

#### 3.5.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Disiapkan larutan DPPH 0,004% dalam etanol. Dipipet 1 ml DPPH ke dalam kuvet dan segera dibuat spektra absorpsi sinar tampak (400-800 nm).
2. Disiapkan larutan uji dari masing-masing lokasi tumbuh dengan konsentrasi 100 ppm dalam etanol. Dipipet 1 ml larutan uji ke dalam kuvet dan segera dibuat spektra absorpsi sinar tampak (400-800 nm).
3. Larutan asam galat 5 ppm disiapkan. Dipipet 800  $\mu\text{l}$  DPPH ke dalam kuvet kemudian ditambahkan 200  $\mu\text{l}$  asam galat. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 515 nm mulai menit ke 0 hingga menit ke 60 dengan selang waktu 5 menit. Waktu reaksi dikatakan optimum jika reaksi terjadi sampai terbentuk plateau.

4. Pengukuran aktivitas antioksidan untuk bahan uji: Dipipet 800  $\mu\text{l}$  DPPH ke dalam kuvet kemudian ditambahkan 200  $\mu\text{l}$  larutan uji. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 495, 515, dan 535 nm di menit ke 30.
5. Tahap (3) dilakukan untuk masing-masing larutan uji, masing-masing 3 kali replikasi.
6. Kapasitas aktivitas antioksidan dihitung dari peredaman warna ungu merah DPPH, yaitu puncak 515 nm dengan perhitungan sebagai berikut:

$$A_{hit} = A_{515} - \left( \frac{A_{495} + A_{535}}{2} \right) \dots \dots \dots (1)$$

7. Aktivitas antioksidan ditentukan dari % peredaman warna ungu dari larutan DPPH pada puncak 515 nm dengan menggunakan rumus (Baskar *et al.*,2007):

$$\% \text{ peredaman DPPH} = \left( 1 - \frac{A_{hit515}}{A_{DPPH}} \right) \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

Nilai 0 % berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedang nilai 100 % berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya.

Dari data yang diperoleh, dibuat kurva antara konsentrasi larutan uji (sebagai absis) dengan persen peredaman DPPH (sebagai ordinat), kemudian dibuat persamaan regresinya.

$$y = bx + a \dots \dots \dots (3)$$

keterangan : y = persenperedaman DPPH  
x = konsentrasi larutan uji

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

8. Setelah  $IC_{50}$  masing-masing sampel diketahui, dilakukan analisis regresi linier untuk mengetahui korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan  $IC_{50}$  masing-masing sampel.

### 3.5.7 Penetapan Kadar Polifenol Total

Kadar polifenol total ekstrak ditentukan menggunakan metode Caghabi *et al.* (2014) dengan sedikit modifikasi, yaitu sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan asam galat

Ditimbang 10 mg asam galat, dilarutkan dengan etanol p.a 10 ml hingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 µg/ml, kemudian larutan 1000 µg/ml diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 µg/ml.

2. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 25 mg ekstrak, dilarutkan dengan etanol p.a 25 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/ml.

3. Pembuatan kurva kalibrasi

0,1 ml larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,5 ml reagen Folin, didiamkan 5 menit. Campuran tadi ditambah 0,4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 %, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm.

4. Pembuatan larutan blangko

0,1 ml etanol p.a dimasukkan dalam kuvet, ditambahkan dengan 0,5 ml reagen folin dan 0,4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 %.

5. Pengamatan absorbansi sampel

0,1 ml larutan sampel dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,5 ml reagen Folin, didiamkan 5 menit. Campuran tadi ditambah 0,4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 %, didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm.

6. Hasil dinyatakan sebagai mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 100 g simplisia.

7. Dilakukan analisis regresi linier untuk mengetahui korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan kadar polifenol total.

### 3.5.8 Penetapan Flavonoid Total

Penetapan flavonoid total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al* (2006), yaitu sebagai berikut:

1. Pembuatan standar kuersetin

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

2. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 10 mg ekstrak, dilarutkan dengan etanol p.a 10 ml hingga diperoleh konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ , kemudian larutan 1000  $\mu\text{g/ml}$  dipipet 1 ml dan diencerkan hingga 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ .

3. Pembuatan kurva kalibrasi

0,5 ml larutan standar dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,5 ml  $\text{AlCl}_3$  2 % . Campuran tadi didiamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 420 nm.

4. Pembuatan larutan blangko

0,5 ml etanol p.a dimasukkan dalam kuvet, ditambahkan dengan 0,5 ml  $\text{AlCl}_3$  2 %.

5. Pengamatan absorbansi sampel

0,5 ml larutan sampel dimasukkan dalam kuvet, ditambah dengan 0,5 ml  $\text{AlCl}_3$  2 % . Campuran tadi didiamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 420 nm.

6. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg ekuivalen kuersetin/ 100 g simplisia.

7. Dilakukan analisis regresi linier untuk mengetahui korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan kadar flavonoid total.

### 3.6 Analisis Data

Untuk uji statistika aktivitas antioksidan, kandungan polifenol total, dan kandungan flavonoid total, semua analisis akan diulang sebanyak tiga kali dari tiga sampel berbeda dan konsentrasi berbeda, serta akan diuji dengan menggunakan *one way analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf  $\alpha$  0,05. Setelah itu, dilakukan uji *post hoc Tukey*.

Uji Hipotesis:

$H_0$  = tidak ada perbedaan yang nyata dan signifikan

$H_1$  = terdapat perbedaan yang nyata dan signifikan

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak yang berasal dari pohon yang tumbuh di Kecamatan Patrang, Ambulu, dan Sumpersari. Daun sirsak yang diambil adalah daun yang berwarna hijau. Pada pembuatan ekstrak daun sirsak, dilakukan pembuatan serbuk daun sirsak terlebih dahulu supaya mudah dimaserasi. Tujuan maserasi adalah untuk mengekstraksi senyawa fitokimia yang terdapat di dalam sampel. Proses maserasi dilakukan dalam etanol selama 72 jam dan dievaporasi pada suhu 50°C untuk menurunkan titik didih pelarut supaya pelarut akan menguap di bawah titik didih normalnya dan supaya senyawa fitokimia yang terdapat dalam ekstrak tidak mengalami kerusakan akibat pemanasan yang berlebihan. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing sampel digunakan sebagai stok untuk uji selanjutnya. Berat awal, berat simplisia, berat ekstrak, dan rendemen masing-masing sampel dapat dilihat dalam Tabel 4.1.

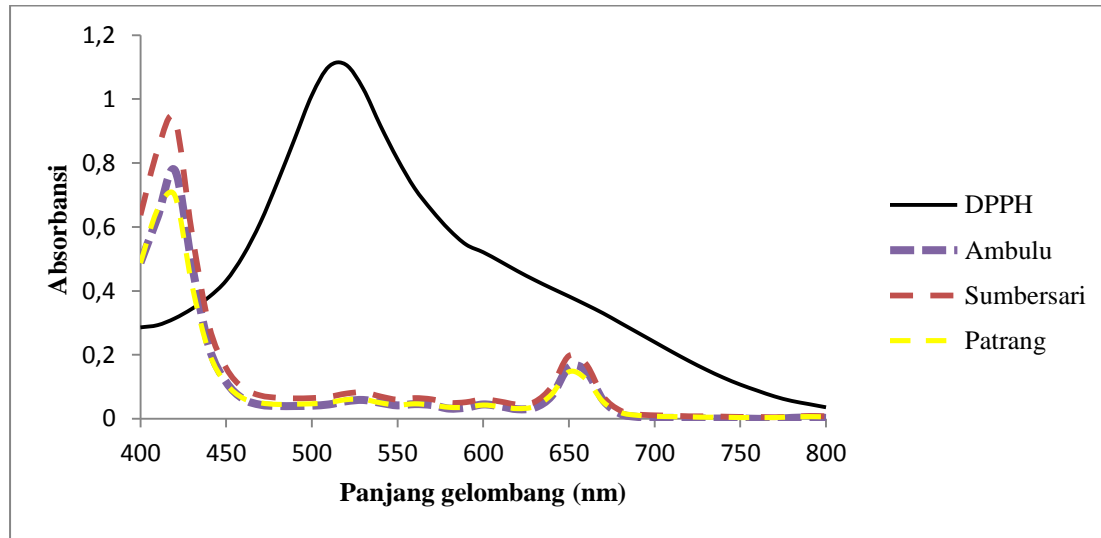
Tabel 4.1 Hasil penimbangan ekstrak daun sirsak dari tiga lokasi berbeda

Sampel Daun Sirsak	Berat Awal (g)	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (% b/b)
Ambulu	2200	350	24,16	6,90
Sumpersari	2200	350	20,79	5,94
Patrang	2200	350	25,78	7,37

#### 4.2 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

##### 4.2.1 Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Optimasi ini bertujuan untuk mencari panjang gelombang yang memberikan absorbansi DPPH maksimum. Pada penelitian ini, dilakukan pengamatan serapan absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 4.1.



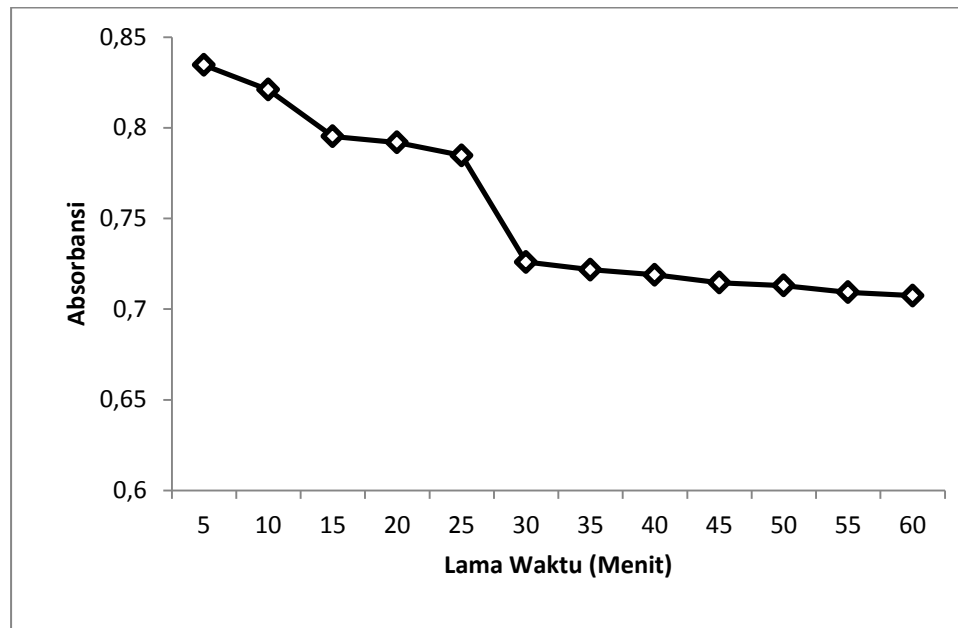
Gambar 4.1 Absorbansi DPPH pada panjang gelombang 400-800 nm

Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,004% adalah 515 nm. Data pengamatan panjang gelombang DPPH dan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran B dan Lampiran C.

#### 4.2.2 Optimasi Waktu Optimum

Pada tahap ini digunakan larutan DPPH dan larutan asam galat 5 ppm dan diamati absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515 nm mulai menit ke 0 sampai menit ke 60 dengan selang waktu 5 menit. Waktu reaksi dikatakan optimum jika reaksi terjadi sampai membentuk plateau (Molyneux, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada menit ke-30, absorbansi DPPH relatif konstan sehingga pada uji aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan pada menit ke-30 (Gambar 4.2).





Gambar 4.2 Absorbansi rata-rata larutan DPPH 0,004% dengan penambahan asam galat 5  $\mu\text{g/ml}$  mulai menit ke 5 hingga menit ke 60

#### 4.2.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

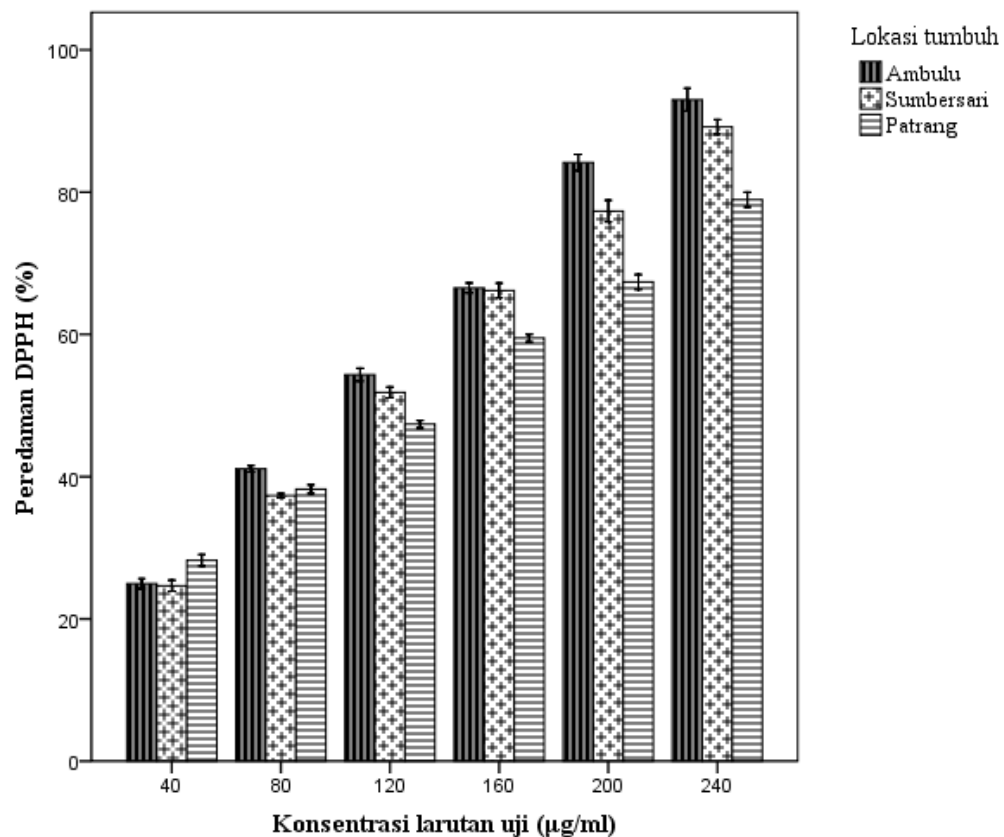
Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan antioksidan meredam warna ungu DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peredaman warna DPPH dari ungu ke kuning karena reaksi DPPH dengan antioksidan akan menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel.

Pada tahap ini, pengukuran absorbansi DPPH dilakukan pada 3 panjang gelombang, yaitu 495, 515, dan 535 nm supaya hasil pengukuran yang diperoleh lebih akurat daripada pengukuran aktivitas antioksidan pada satu panjang gelombang. Berdasarkan penelitian tersebut, diperoleh absorbansi hitung seperti yang terlihat pada lampiran G.

Dari data absorbansi hitung, diperoleh peredaman DPPH (%) seperti yang terlihat pada Lampiran G. Setelah itu, diperoleh hubungan antara konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH. Hasil regresi linier menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman DPPH, yaitu semakin besar konsentrasi

larutan uji, semakin besar pula persen peredamannya. Hal ini dijelaskan pula dalam lampiran G.

Bila aktivitas antioksidan pada ketiga sampel dibandingkan satu sama lain, maka diperoleh adanya perbedaan antara aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak Ambulu, aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak Summersari, dan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak Patrang. Hal ini dijelaskan dalam Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Persen peredaman DPPH (rata-rata  $\pm$  SD) ekstrak daun sirsak dari lokasi berbeda (n=3)

Gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi persen peredaman DPPH. Selain itu, dapat dilihat bahwa persen peredaman DPPH tertinggi berasal dari ekstrak daun sirsak Ambulu dan persen peredaman DPPH terendah berasal dari ekstrak daun sirsak Patrang, sehingga semakin tinggi lokasi tumbuh, persen peredaman DPPH semakin rendah.

Untuk menyatakan aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak, digunakan nilai  $IC_{50}$  sebagai parameter karena  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang mampu meredam 50 % radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Semakin kecil  $IC_{50}$ , maka semakin besar daya peredamannya. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh  $IC_{50}$  seperti yang terlihat pada tabel 4.2:

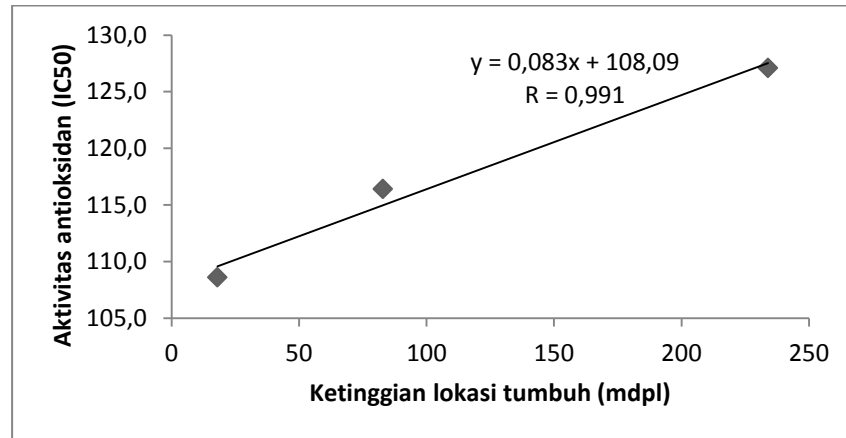
Tabel 4.2 Nilai  $IC_{50}$  ekstrak daun sirsak

BahanUji	$IC_{50}$ (ppm) $\pm$ SD
Ekstrak daun sirsak Ambulu	108,95 $\pm$ 1,500 <sup>a</sup>
Ekstrak daun sirsak Sumpersari	116,38 $\pm$ 0,475 <sup>b</sup>
Ekstrak daun sirsak Patrang	127,10 $\pm$ 1,067 <sup>c</sup>
Larutan asam galat	4,96 $\pm$ 0,047

Ket a,b,c : notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa  $IC_{50}$  ekstrak daun sirsak Ambulu  $<$   $IC_{50}$  ekstrak daun sirsak Sumpersari  $<$   $IC_{50}$  ekstrak daun sirsak Patrang dengan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ). Bila ketiga ekstrak tersebut dibandingkan dengan kontrol positif asam galat,  $IC_{50}$  asam galat jauh lebih kecil daripada ketiga ekstrak tersebut. Hal ini disebabkan karena asam galat yang digunakan merupakan senyawa murni yang terbukti mempunyai aktivitas antioksidan bila dibandingkan dengan ekstrak yang terdiri dari berbagai komponen.

Nilai  $IC_{50}$  masing-masing sampel dikorelasikan dengan ketinggian lokasi tumbuh untuk mengetahui korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap  $IC_{50}$  masing-masing sampel. Berdasarkan hasil korelasi, diperoleh persamaan regresi linier seperti pada Gambar 4.4.



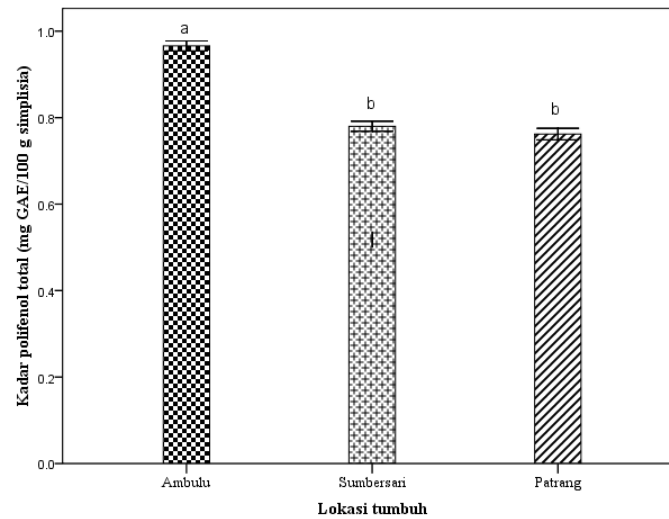
Gambar 4.4 Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan IC<sub>50</sub>

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling rendah menunjukkan IC<sub>50</sub> yang paling rendah, sedangkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling tinggi menunjukkan IC<sub>50</sub> yang paling tinggi. Semakin rendah IC<sub>50</sub>, aktivitas antioksidan semakin baik sehingga semakin tinggi lokasi tumbuh, semakin rendah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan. Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa R hitung yang diperoleh dari persamaan tersebut adalah 0,991. Nilai R tersebut lebih kecil dari R tabel, yaitu 0,997 sehingga dapat dikatakan bahwa tidak terdapat korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap IC<sub>50</sub> masing-masing sampel.

### 4.3 Penentuan Kadar Polifenol Total

Pengukuran dilakukan secara triplo pada panjang gelombang 765 nm. Hasil pengukurannya dapat dilihat pada lampiran G. Dari data tersebut, dibuat kurva kalibrasi asam galat yang menghasilkan persamaan  $y=0,005x + 0,182$  ( $R^2 = 0,988$ ), dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan kadar asam galat.

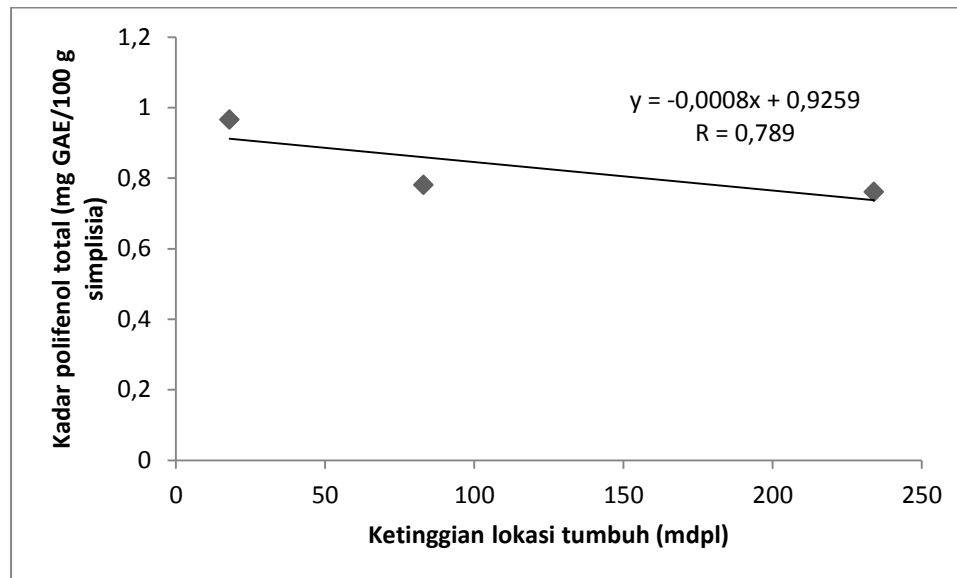
Hasil penetapan kadar polifenol total dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kadar polifenol (rata-rata  $\pm$  SD) ekstrak daun sirsak di jember (n=3), notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Gambar 4.5 menunjukkan adanya perbedaan kadar polifenol total antara daun sirsak di daerah Ambulu terhadap kadar polifenol total daun sirsak di daerah Sumbersari dan Patrang. Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa kadar polifenol daun sirsak Ambulu tertinggi bila dibandingkan dengan kadar polifenol daun sirsak di daerah lain. Hal ini juga dijumpai pada tanaman *Rosa damascene* (Baziar *et al.*, 2013) dan tanaman *Capparis spinosa* (Mishra *et al.*, 2011). Hal ini disebabkan karena konsentrasi dan distribusi polifenol dalam tumbuhan tidak hanya dipengaruhi genetik, tetapi juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti cahaya, kelembaban, dan kesuburan tanah (Warren dalam Malnikova *et al.*, 2013).

Nilai kadar polifenol masing-masing sampel yang telah ditentukan, dikorelasikan terhadap ketinggian lokasi tumbuh untuk mengetahui korelasi antara keduanya. Berdasarkan hasil korelasi, diperoleh persamaan regresi linier seperti pada Gambar 4.6.



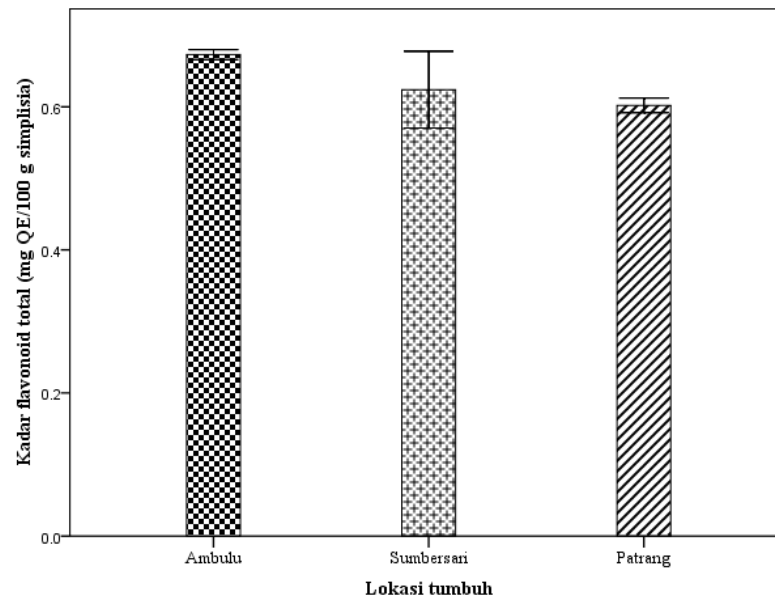
Gambar 4.6 Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh dan kadar polifenol total

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling rendah memiliki kadar polifenol total paling tinggi, sedangkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling tinggi memiliki kadar polifenol total paling rendah. Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa R hitung yang diperoleh dari persamaan tersebut adalah 0,789. R tersebut lebih kecil daripada R tabel, yaitu 0,997 sehingga dapat dikatakan bahwa tidak terdapat korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar polifenol total masing-masing sampel.

#### 4.4 Penentuan Kadar Flavonoid Total

Hasil pengukuran flavonoid total dapat dilihat pada lampiran H. Dari data tersebut, dibuat kurva kalibrasi kuersetin yang menghasilkan persamaan  $y=0,015x + 0,031$  ( $R^2 = 0,991$ ), dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan kadar kuersetin.

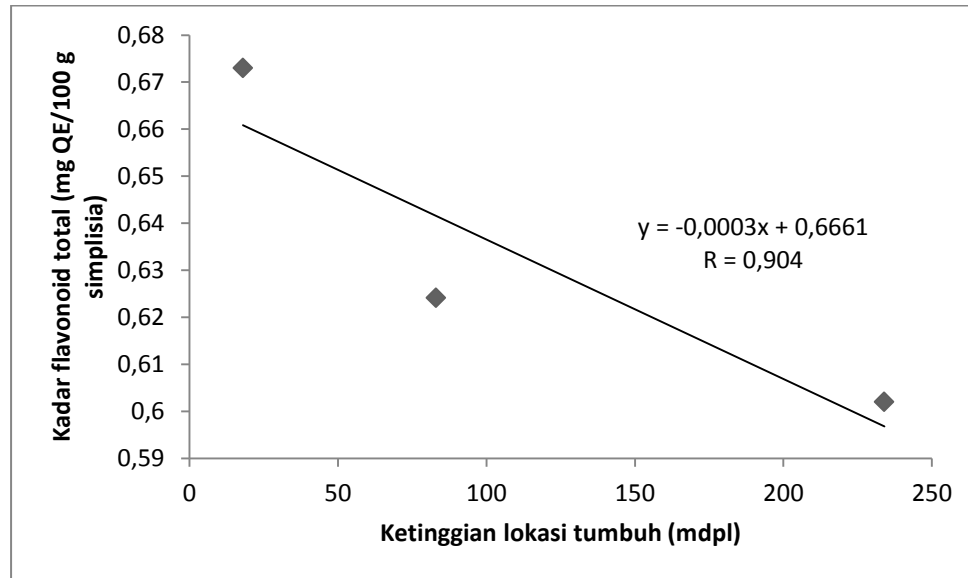
Setelah mengetahui kurva kalibrasi kuersetin, dilakukan pengukuran absorbansi sampel daun sirsak. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Kadar flavonoid (rata-rata  $\pm$  SD) ekstrak daun sirsak di jember (n=3), menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ )

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa kadar flavonoid menurun seiring meningkatnya ketinggian tempat meskipun tidak ada perbedaan antara kadar flavonoid daun sirsak di daerah Ambulu, Sumpersari, dan Patrang. Hal ini juga dijumpai pada tanaman *Capparis spinosa* (Mishra *et al.*, 2011) dan pada tanaman *Fragaria vesca* (Malinikova *et al.*, 2013). Hal ini dikarenakan kadar dan distribusi flavonoid bukan hanya dipengaruhi genetik, tetap juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti cahaya, kelembaban, dan kesuburan tanah (Warren dalam Malinikova *et al.*, 2013).

Nilai kadar flavonoid masing-masing sampel yang telah ditentukan, dikorelasikan terhadap ketinggian lokasi tumbuh untuk mengetahui korelasi antara keduanya. Berdasarkan hasil korelasi, diperoleh persamaan regresi linier seperti pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar flavonoid total

Gambar 4.8 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling rendah memiliki kadar flavonoid total paling tinggi, sedangkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling tinggi memiliki kadar flavonoid total paling rendah. Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa R hitung yang diperoleh dari persamaan tersebut adalah 0,904. R tersebut lebih kecil dari R tabel, yaitu 0,997 sehingga dapat dikatakan bahwa tidak terdapat korelasi antara ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar flavonoid total masing-masing sampel.



## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dijelaskan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan pada aktivitas antioksidan daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda, yaitu semakin tinggi tempat, aktivitas antioksidan semakin menurun.
2. Terdapat perbedaan pada kadar polifenol total daun sirsak Ambulu terhadap kadar polifenol total daun sirsak Summersari dan Patrang, dan tidak terdapat perbedaan antara kadar polifenol total daun sirsak Summersari dan kadar polifenol total daun sirsak Patrang.
3. Tidak terdapat perbedaan pada kadar flavonoid total daun sirsak yang tumbuh di tiga lokasi berbeda.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan penelitian tersebut, peneliti memberi saran pada peneliti selanjutnya untuk meneliti kadar polifenol total, kadar flavonoid total, dan aktivitas antioksidan daun sirsak di daerah Ambulu pada musim hujan atau musim kemarau dengan cara mengambil sampel daun sirsak di daerah Ambulu setiap bulan selama 6 bulan baik pada musim hujan ataupun musim kemarau dan disarankan untuk mengambil sampel pada lokasi yang agak berjauhan untuk memastikan bahwa lokasi pengambilan sampel mewakili sampel daun sirsak di masing-masing daerah serta disarankan untuk memperluas range ketinggian lokasi tumbuh untuk memastikan adanya perbedaan aktivitas antioksidan, kadar polifenol, dan flavonoid akibat perbedaan ketinggian lokasi tumbuh.

## DAFTAR PUSTAKA

### Buku

Departemen Kesehatan.1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: DEPKES RI.

Evans WC.,2002. *Production of Crude Drugs*, in : Evans WC., Trease and Evans Pharmacognosy, 15<sup>th</sup> ed., Elsevier Science Limited. Part 3 (9): 61-66.

Hasni, K. 2009. *Physical Properties of Soursop (AnnonaMuricata) Powder Produced by Spray Drying*. Universiti Malaysia Pahang.

Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., dan Anthony, S.2009. *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*. World Agroforestry Centre, Kenya.

Vanhaelen M, Lejoly J, Hanocq M, Moole L,1991. *Climatic and Geographical Aspects of Medicinal Plant Constituents*, in : Wijesekera ROB (Ed.). *The medicinal plant industry*. CRC Press New York.5: 59-60.

### Jurnal

Adewole, S.O., dan Ojewole, J.A.O.2006. Immunohistochemical and Biochemical Effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic  $\beta$ -cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *Pharmacology online* , no 2: 335–355.

Ahalya, B., Ravishankar,K., dan P. Priyabandhavi.2013. Evaluation of in vitro Antioxidant Activity of *Annona muricata* Bark. *International Journal of Pharmaceutical , chemical, and Biological Sciences* 3, no. 2: 406–410.

Badarinath, A.V., RAO, K.M., Chetty, C.M.S, Ramkanth, S. , Rajan, T.V.S, dan Gnanaprakash, K.2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of PharmTech Research* 2, no. 2: 1276–1285.

Baskar, R., Rajeswari, V., dan Kumar, T.S. 2007. In Vitro Antioxidant Studies in Leaves of *Annona* Species. *Indian Journal of Experimental Biology* 45: 480–485.

Baziar, S., A. Zakerin, and P. Rowshan.2013. Antioxidant Properties and Polyphenolic Compounds of *Rosa Damascene* Collected from Different Altitudes. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4, no. 11: 2937–2942.

Blainski, A., G.C. Lopes, dan J.C.P. De Melo.2013. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules* no. 18: 6852–6865.

- Dai, J., dan Mumper, R.J.2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* no. 15: 7313–7352.
- De Melo, J.G., Araujo, T.A., Castro, V.T.N., Cabral, D.L., Rodrigues, M., Nascimento, S.C., Amorim, E.L.C., dan Albuquerque, U.P. 2010. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. *Molecules* no. 15: 8534–8542.
- De Sousa, O.V, Vieira, G., de Pinho, J., Yamamoto, C.H., dan Alves, M.S.2010. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona Muricata* L. Leaves in Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences* no. 11: 2067–2078.
- El-Chagabi, Ghadir A., Ahmad, Abeer F., dan Ramis, Eman S.2014. Evaluation of The Antioxidant and Antibacterial Properties of Various Solvents Extract of *Annona squamosa* L. Leaves. *Arabian Journal of Chemistry* 7: 227-233.
- Folorunso, A.E., dan Olorode, O.2006. Biosystematic Studies of Annonaceae I. Vegetatif and Floral Morphological Studies of Some Species of *Annona* in Nigeria. *Research Journal of Botany* 1, no. 3: 118–124.
- Franco, D., Sineiro, J., Rubilar, M., Sanchez, M., Jerez, M., Pinelo, M., Costoya, N., dan Nunez, M.J.2008. Polyphenols from Plant Materials: Extraction and Antioxidant Power. *Electronic Journal of Environment, Agricultural, and Food Chemistry* 7, no. 8: 3210–3216.
- Halliwell, B. 2001. Free Radicals and Other Reactive Species in Disease. *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Han, R.M., Zhang, J.P., dan Skibsted, Leif H.2012. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules* 17, 2140-2160.
- Joshi, UH, Ganatra TH, Bhalodiya PN, Desai, TR dan Tirgar PR.2012. Comparative Review on Harmless Herbs with Allopathic Remedies As Anti-Hypertensive. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 3, no. 2: 673–687.
- Kiranmai, M., C.B.M. Kumar, and M. Ibrahim.2011. Comparison of Total Flavanoid Content of *Azadirachta Indica* Root Bark Extracts Prepared by Different Methods of Extraction. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2, no. 3: 254–261.

- Leopoldini, M., Russo, N. dan Toscano, M. 2011. The Molecular Basis of Working Mechanism of Natural Polyphenolic Antioxidants. *Food Chemistry* no. 125: 288–306.
- Malinikova, E., J. Kukla, M. Kuklova, and M. Balazova. 2013. Altitudinal Variation of Plant Traits: Morphological Characteristics in *Fragaria Vesca* L. (Rosaceae). *Annals of Forest Research* 56, no. 1: 79–89.
- Mishra, Gyan P., Bhojar, Manish S., Naik, Pradip K., dan Srivastava, R.B. 2011. Estimation of Antioxidant Activity and Total Phenolics Among Natural Populations of Caper (*Capparis spinosa*) Leaves Collected from Cold Arid Desert of Trans-Himalayas. *Australian Journal of Crop Science* 5, no. 7: 912–919.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology*. 26, no. 2: 211–219.
- Nawwar, M., Ayoub, N., Hussein, S., Hashim, A., El-Sharawy, R., Wende, K., Harms, M. dan Lindequist, U. 2012. Flavonol Triglycoside and Investigation of the Antioxidant and Cell Stimulating Activities of *Annona Muricata* Linn. *Archives of Pharmacal Research* 35, no. 5: 761–767.
- Okunomo, K., dan Egho, E.O. 2010. Economic Importance of Some Underexploited Tree Species in Nigeria: Urgent Need for Separate Research Centers. *Continental Journal of Biological Sciences* no. 3: 16–32.
- Ordonez, A.A., Gomez, J.G, Vattuone, M.A., dan Isla, M.I. 2006. Antioxidant Activities of *Sechium edulesvuart* Extract. *Food Chemistry* 97:452–458.
- Panchawat, S., Rathore K.S., dan Sisodia S.S. 2010. A Review on Herbal Antioxidants. *International Journal of PharmTech Research* 2, no. 1: 232–239.
- Pandey, N., dan Barve, D. 2011. Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Annona Squamosa* Linn Bark. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2, no. 4 : 1692–1697.
- Pontis, J.A., L.A.M.A Da Costa, S.J.R. Da Silva, and A. Flach. 2014. Color, Phenolic and Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Honey from Roraima, Brazil. *Food Sciences and Technology* 34, no. 1.
- Sidik. 1997. Prosiding Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII 26 s/d 27 Juni 1997.

- Tandon, V., Gupta, B.M. dan Tandon, R.2005. Free Radicals/ Reactive Oxygen Species. *JK-PRACTITIONER* 12, no. 3: 143–148.
- Umemura T., Kodama Y., Hioki K., Inoue T., Nomura T., Kurokawa Y. 2001. Butylhydroxytoluene (BHT) Increases Susceptibility of Transgenic ras H2 Mice to Lung Carcinogenesis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 127(10): 583-590.
- USDA.2011. *Taxonomy and Nomenclature of Annona muricata L.* TSN 18098
- Usonomena, U.2012. Review Manuscript: A Review of Some African Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3, no. 4: 1–11.
- Vijayameena, C., Subhashini, G., Loganayagi, M., dan Ramesh, B.2013. Phytochemical Screening and Assessment of Antibacterial Activity for the Bioactive Compounds in *Annona Muricata*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2, no. 1: 1–8.
- Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R., dan Siahaan, M.2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Berbagai Tanaman. *Universitas Kristen Maranatha Bandung, MKU, Universitas Padjadjaran Bandung, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Manado, Fakultas MIPA Universitas Advent Indonesia Bandung, Fakultas MIPA* 5, no. 1: 33–48.
- Website**
- Arnelia. 2002. *Fitokimia, Komponen Ajaib Cegah PJK, Diabetes Mellitus & Kanker*. <http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.cgi?> artikel (diakses tanggal 23 Desember 2013).
- Pemerintah Kabupaten Jember .2014. Profil Barat Jember Jawa Timur. [Http://ciptakarya.pu.go.id/profil/profil/barat/jatim/jember.pdf](http://ciptakarya.pu.go.id/profil/profil/barat/jatim/jember.pdf) (diakses tanggal 10 Januari 2014).
- Pemerintah Kabupaten Jember.2009. Kecamatan Ambulu Jember Jawa Timur. [Http://www.pemkabjember.go.id/v3/kecamatan/ambulu.php](http://www.pemkabjember.go.id/v3/kecamatan/ambulu.php) 23 juli 2009 (diakses tanggal 10 Januari 2014).
- Salendra, W.2011. Desa Jumerto Kecamatan Patrang Kabupaten Jember. [Http://lib.uinmalang.ac.id/?mod=th\\_viewer&id=chapter\\_iv/07130077.pdf](http://lib.uinmalang.ac.id/?mod=th_viewer&id=chapter_iv/07130077.pdf) (diakses tanggal 27 januari 2014).

## LAMPIRAN A. DETERMINASI TUMBUHAN

**HERBARIUM JEMBERIENSE (JR)  
JURUSAN BIOLOGI-FMIPA UNIVERSITAS JEMBER  
JEMBER, INDONESIA**

---

## SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI


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


Nama/NIM : Ayu Kartika Sari / 092210101071  
Jur./Fak./PT : Fak. Farmasi /Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Annona muricata* L. { Syn. *Annona macrocarpa* Barb. Rodr., *A. bonplandiana*, *A. cearensis*, *Guanabanus muricatus*: Family – Annonaceae ; Vernacular name – Sirsak (Ind.), Sirsat (Jw)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 25 April 2013  
Laboratorium,  
  
Dwi Setyati, MSi  
NIP 196404171991032001



Determined by Dra. Umiyah, MSc.agr.

## LAMPIRAN B. PENGAMATAN ABSORBANSI DPPH

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116  
 ROM Version: 07  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

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

## ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.036	799.5	0.036	799.0	0.036	798.5	0.037
798.0	0.037	797.5	0.038	797.0	0.038	796.5	0.039
796.0	0.039	795.5	0.039	795.0	0.040	794.5	0.040
794.0	0.041	793.5	0.042	793.0	0.042	792.5	0.043
792.0	0.043	791.5	0.044	791.0	0.045	790.5	0.045
790.0	0.046	789.5	0.047	789.0	0.047	788.5	0.047
788.0	0.047	787.5	0.048	787.0	0.049	786.5	0.049
786.0	0.050	785.5	0.050	785.0	0.051	784.5	0.052
784.0	0.052	783.5	0.053	783.0	0.054	782.5	0.054
782.0	0.054	781.5	0.055	781.0	0.055	780.5	0.056
780.0	0.056	779.5	0.057	779.0	0.057	778.5	0.058
778.0	0.058	777.5	0.059	777.0	0.060	776.5	0.061
776.0	0.061	775.5	0.062	775.0	0.063	774.5	0.063
774.0	0.064	773.5	0.065	773.0	0.066	772.5	0.067
772.0	0.067	771.5	0.068	771.0	0.069	770.5	0.070
770.0	0.070	769.5	0.071	769.0	0.072	768.5	0.073
768.0	0.074	767.5	0.074	767.0	0.075	766.5	0.076
766.0	0.077	765.5	0.078	765.0	0.079	764.5	0.079
764.0	0.080	763.5	0.081	763.0	0.082	762.5	0.083
762.0	0.084	761.5	0.085	761.0	0.086	760.5	0.087
760.0	0.088	759.5	0.089	759.0	0.090	758.5	0.091
758.0	0.091	757.5	0.092	757.0	0.093	756.5	0.094
756.0	0.095	755.5	0.096	755.0	0.097	754.5	0.098
754.0	0.099	753.5	0.100	753.0	0.101	752.5	0.102
752.0	0.103	751.5	0.104	751.0	0.106	750.5	0.106
750.0	0.107	749.5	0.109	749.0	0.110	748.5	0.111
748.0	0.112	747.5	0.113	747.0	0.114	746.5	0.115
746.0	0.116	745.5	0.117	745.0	0.118	744.5	0.119
744.0	0.120	743.5	0.121	743.0	0.122	742.5	0.123
742.0	0.124	741.5	0.125	741.0	0.126	740.5	0.127
740.0	0.129	739.5	0.130	739.0	0.131	738.5	0.132
738.0	0.134	737.5	0.135	737.0	0.136	736.5	0.137
736.0	0.139	735.5	0.140	735.0	0.141	734.5	0.143
734.0	0.144	733.5	0.145	733.0	0.146	732.5	0.148
732.0	0.149	731.5	0.150	731.0	0.151	730.5	0.153
730.0	0.154	729.5	0.156	729.0	0.157	728.5	0.158
728.0	0.159	727.5	0.160	727.0	0.162	726.5	0.163
726.0	0.164	725.5	0.166	725.0	0.167	724.5	0.168
724.0	0.170	723.5	0.171	723.0	0.173	722.5	0.174
722.0	0.175	721.5	0.177	721.0	0.178	720.5	0.180
720.0	0.181	719.5	0.182	719.0	0.184	718.5	0.185
718.0	0.187	717.5	0.188	717.0	0.189	716.5	0.191
716.0	0.192	715.5	0.194	715.0	0.195	714.5	0.197
714.0	0.198	713.5	0.199	713.0	0.201	712.5	0.202
712.0	0.204	711.5	0.205	711.0	0.207	710.5	0.208
710.0	0.210	709.5	0.212	709.0	0.213	708.5	0.214
708.0	0.215	707.5	0.217	707.0	0.218	706.5	0.220
706.0	0.221	705.5	0.223	705.0	0.224	704.5	0.226
704.0	0.227	703.5	0.229	703.0	0.230	702.5	0.232
702.0	0.234	701.5	0.235	701.0	0.237	700.5	0.238
700.0	0.240	699.5	0.241	699.0	0.243	698.5	0.244
698.0	0.246	697.5	0.247	697.0	0.249	696.5	0.250
696.0	0.251	695.5	0.253	695.0	0.254	694.5	0.256
694.0	0.258	693.5	0.259	693.0	0.261	692.5	0.262
692.0	0.264	691.5	0.265	691.0	0.267	690.5	0.269
690.0	0.270	689.5	0.272	689.0	0.273	688.5	0.274
688.0	0.276	687.5	0.277	687.0	0.279	686.5	0.280
686.0	0.282	685.5	0.283	685.0	0.285	684.5	0.286

683.5	0.289	683.0	0.291	680.5	0.299
681.5	0.296	681.0	0.297	680.5	0.299
679.5	0.301	679.0	0.303	678.5	0.304
677.5	0.308	677.0	0.309	676.5	0.311
675.5	0.314	675.0	0.315	674.5	0.317
673.5	0.320	673.0	0.321	672.5	0.323
671.5	0.326	671.0	0.327	670.5	0.329
669.5	0.332	669.0	0.333	668.5	0.334
667.5	0.336	667.0	0.338	666.5	0.339
665.5	0.342	665.0	0.343	664.5	0.345
663.5	0.347	663.0	0.349	662.5	0.350
661.5	0.353	661.0	0.354	660.5	0.356
659.5	0.358	659.0	0.360	658.5	0.361
657.5	0.363	657.0	0.365	656.5	0.366
655.5	0.368	655.0	0.370	654.5	0.371
653.5	0.374	653.0	0.375	652.5	0.377
651.5	0.379	651.0	0.381	650.5	0.382
649.5	0.384	649.0	0.385	648.5	0.386
647.5	0.389	647.0	0.390	646.5	0.391
645.5	0.393	645.0	0.395	644.5	0.396
643.5	0.399	643.0	0.400	642.5	0.402
641.5	0.404	641.0	0.405	640.5	0.407
639.5	0.409	639.0	0.411	638.5	0.412
637.5	0.415	637.0	0.416	636.5	0.417
635.5	0.419	635.0	0.420	634.5	0.422
633.5	0.425	633.0	0.426	632.5	0.427
631.5	0.430	631.0	0.431	630.5	0.433
629.5	0.436	629.0	0.437	628.5	0.438
627.5	0.441	627.0	0.442	626.5	0.444
625.5	0.446	625.0	0.448	624.5	0.449
623.5	0.452	623.0	0.453	622.5	0.455
621.5	0.457	621.0	0.459	620.5	0.460
619.5	0.463	619.0	0.464	618.5	0.466
617.5	0.468	617.0	0.470	616.5	0.471
615.5	0.474	615.0	0.476	614.5	0.478
613.5	0.481	613.0	0.482	612.5	0.484
611.5	0.487	611.0	0.489	610.5	0.490
609.5	0.493	609.0	0.495	608.5	0.496
607.5	0.499	607.0	0.500	606.5	0.502
605.5	0.505	605.0	0.507	604.5	0.508
603.5	0.512	603.0	0.514	602.5	0.515
601.5	0.519	601.0	0.520	600.5	0.522
599.5	0.516	599.0	0.515	598.5	0.517
597.5	0.519	597.0	0.521	596.5	0.522
595.5	0.524	595.0	0.526	594.5	0.527
593.5	0.531	593.0	0.532	592.5	0.535
591.5	0.538	591.0	0.540	590.5	0.542
589.5	0.547	589.0	0.549	588.5	0.551
587.5	0.555	587.0	0.557	586.5	0.559
585.5	0.563	585.0	0.566	584.5	0.568
583.5	0.573	583.0	0.576	582.5	0.579
581.5	0.585	581.0	0.587	580.5	0.590
579.5	0.595	579.0	0.598	578.5	0.601
577.5	0.605	577.0	0.609	576.5	0.612
575.5	0.618	575.0	0.621	574.5	0.624
573.5	0.630	573.0	0.633	572.5	0.635
571.5	0.642	571.0	0.645	570.5	0.648
569.5	0.655	569.0	0.658	568.5	0.661
567.5	0.667	567.0	0.670	566.5	0.673
565.5	0.680	565.0	0.684	564.5	0.687
563.5	0.695	563.0	0.699	562.5	0.702
561.5	0.710	561.0	0.713	560.5	0.717
559.5	0.726	559.0	0.729	558.5	0.733
557.5	0.741	557.0	0.746	556.5	0.751
555.5	0.759	555.0	0.764	554.5	0.769
553.5	0.778	553.0	0.782	552.5	0.788
551.5	0.799	551.0	0.804	550.5	0.808
549.5	0.817	549.0	0.821	548.5	0.826
547.5	0.835	547.0	0.840	546.5	0.844
545.5	0.855	545.0	0.861	544.5	0.866
543.5	0.877	543.0	0.883	542.5	0.888
541.5	0.901	541.0	0.906	540.5	0.912
539.5	0.928	539.0	0.929	538.5	0.934
537.5	0.946	537.0	0.951	536.5	0.957
535.5	0.969	535.0	0.975	534.5	0.981
533.5	0.993	533.0	0.998	532.5	1.004
531.5	1.016	531.0	1.021	530.5	1.026
529.5	1.037	529.0	1.042	528.5	1.046
527.5	1.056	527.0	1.060	526.5	1.064
525.5	1.073	525.0	1.077	524.5	1.081
523.5	1.088	523.0	1.092	522.5	1.095

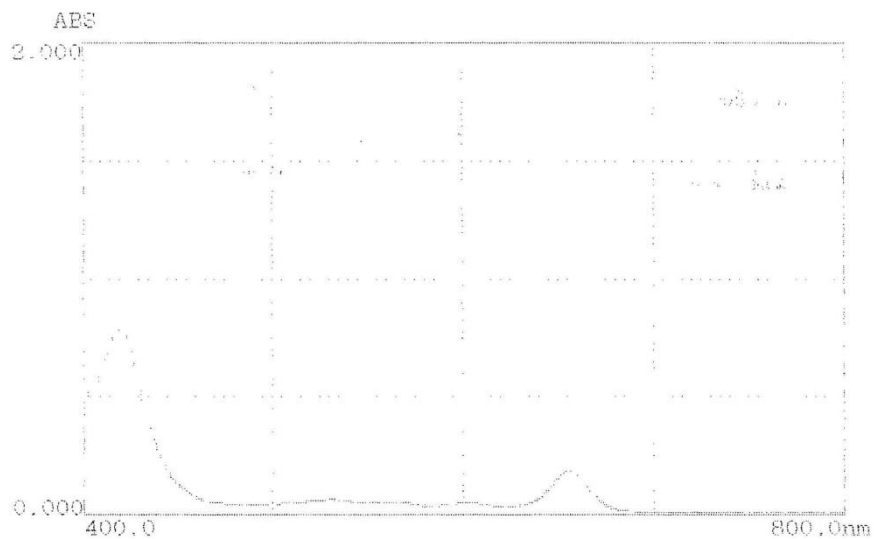


		521.0	1.100	521.0	1.100	521.0	1.100
		519.5	1.109	519.0	1.111	518.5	1.112
		517.5	1.114	517.0	1.114	516.5	1.115
		515.5	1.116	515.0	1.116	514.5	1.115
	1.115	513.5	1.115	513.0	1.114	512.5	1.112
	1.110	511.5	1.109	511.0	1.107	510.5	1.105
	1.102	509.5	1.099	509.0	1.096	508.5	1.094
	1.091	507.5	1.097	507.0	1.084	506.5	1.080
	1.076	505.5	1.071	505.0	1.067	504.5	1.062
504.0	1.057	503.5	1.052	503.0	1.046	502.5	1.041
502.0	1.035	501.5	1.030	501.0	1.024	500.5	1.019
500.0	1.012	499.5	1.007	499.0	1.001	498.5	0.995
498.0	0.990	497.5	0.983	497.0	0.976	496.5	0.968
496.0	0.961	495.5	0.955	495.0	0.947	494.5	0.940
494.0	0.933	493.5	0.926	493.0	0.918	492.5	0.912
492.0	0.905	491.5	0.897	491.0	0.890	490.5	0.883
490.0	0.876	489.5	0.869	489.0	0.863	488.5	0.857
488.0	0.851	487.5	0.845	487.0	0.838	486.5	0.831
486.0	0.824	485.5	0.817	485.0	0.811	484.5	0.804
484.0	0.797	483.5	0.789	483.0	0.781	482.5	0.774
482.0	0.767	481.5	0.760	481.0	0.754	480.5	0.747
480.0	0.741	479.5	0.733	479.0	0.727	478.5	0.720
478.0	0.714	477.5	0.708	477.0	0.702	476.5	0.695
476.0	0.689	475.5	0.682	475.0	0.675	474.5	0.669
474.0	0.662	473.5	0.656	473.0	0.650	472.5	0.644
472.0	0.637	471.5	0.631	471.0	0.626	470.5	0.620
470.0	0.614	469.5	0.608	469.0	0.602	468.5	0.597
468.0	0.593	467.5	0.588	467.0	0.583	466.5	0.577
466.0	0.572	465.5	0.567	465.0	0.562	464.5	0.556
464.0	0.551	463.5	0.545	463.0	0.540	462.5	0.535
462.0	0.530	461.5	0.525	461.0	0.520	460.5	0.516
460.0	0.511	459.5	0.506	459.0	0.503	458.5	0.499
458.0	0.494	457.5	0.490	457.0	0.486	456.5	0.482
456.0	0.477	455.5	0.472	455.0	0.469	454.5	0.465
454.0	0.461	453.5	0.457	453.0	0.453	452.5	0.449
452.0	0.446	451.5	0.442	451.0	0.439	450.5	0.436
450.0	0.432	449.5	0.429	449.0	0.426	448.5	0.424
448.0	0.421	447.5	0.418	447.0	0.416	446.5	0.413
446.0	0.410	445.5	0.407	445.0	0.404	444.5	0.402
444.0	0.399	443.5	0.397	443.0	0.394	442.5	0.392
442.0	0.390	441.5	0.388	441.0	0.386	440.5	0.383
440.0	0.381	439.5	0.379	439.0	0.377	438.5	0.376
438.0	0.374	437.5	0.372	437.0	0.370	436.5	0.368
436.0	0.366	435.5	0.364	435.0	0.362	434.5	0.360
434.0	0.358	433.5	0.356	433.0	0.355	432.5	0.353
432.0	0.351	431.5	0.349	431.0	0.348	430.5	0.346
430.0	0.344	429.5	0.342	429.0	0.341	428.5	0.339
428.0	0.337	427.5	0.336	427.0	0.334	426.5	0.333
426.0	0.331	425.5	0.329	425.0	0.328	424.5	0.326
424.0	0.325	423.5	0.323	423.0	0.322	422.5	0.321
422.0	0.319	421.5	0.318	421.0	0.317	420.5	0.315
420.0	0.314	419.5	0.313	419.0	0.311	418.5	0.310
418.0	0.309	417.5	0.308	417.0	0.306	416.5	0.305
416.0	0.304	415.5	0.303	415.0	0.302	414.5	0.301
414.0	0.300	413.5	0.299	413.0	0.298	412.5	0.297
412.0	0.296	411.5	0.296	411.0	0.295	410.5	0.294
410.0	0.293	409.5	0.292	409.0	0.292	408.5	0.291
408.0	0.291	407.5	0.290	407.0	0.290	406.5	0.288
406.0	0.288	405.5	0.288	405.0	0.287	404.5	0.287
404.0	0.287	403.5	0.287	403.0	0.286	402.5	0.286
402.0	0.286	401.5	0.286	401.0	0.286	400.5	0.286
400.0	0.286						

**LAMPIRAN C. PENGAMATAN ABSORBANSI SAMPEL**  
**C.1 ABSORBANSI EKSTRAK DAUN SIRSAK AMBULU**

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116  
ROM Version: 97  
Sample Name:  
Date:  
Operator:



Wavelength Scan  
Data Mode: ABS  
Scan Range: 800.0-400.0nm  
Slit Width: 4nm  
Speed(nm/min): 400nm/min  
Lamp Change Wavelength: 640.0nm  
Path Length:

## U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116  
 ROM Version: 07  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

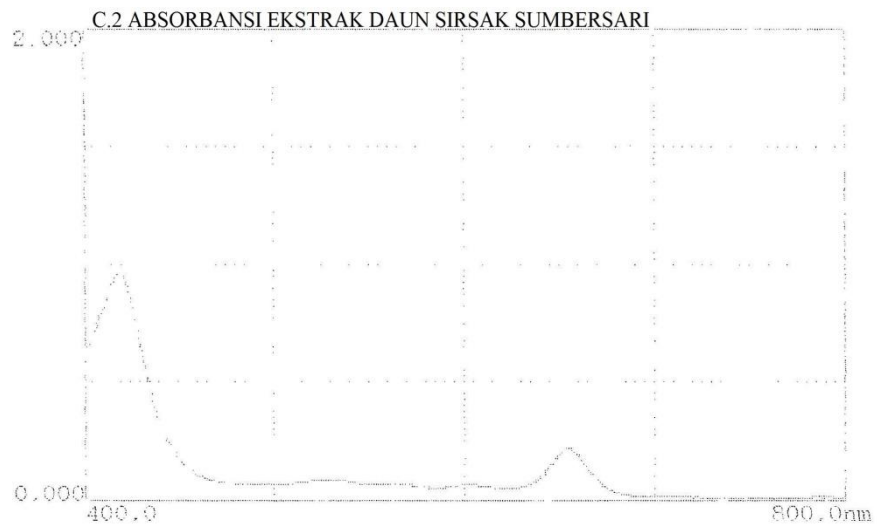
Wavelength Scan  
 Data Mode: ABS  
 Scan Range: 800.0-400.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 400nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

## ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.003	799.5	0.003	799.0	0.002	798.5	0.003
798.0	0.004	797.5	0.004	797.0	0.004	796.5	0.004
796.0	0.004	795.5	0.004	795.0	0.004	794.5	0.004
794.0	0.004	793.5	0.004	793.0	0.004	792.5	0.004
792.0	0.004	791.5	0.004	791.0	0.004	790.5	0.004
790.0	0.004	789.5	0.005	789.0	0.005	788.5	0.004
788.0	0.004	787.5	0.004	787.0	0.004	786.5	0.004
786.0	0.004	785.5	0.004	785.0	0.004	784.5	0.004
784.0	0.004	783.5	0.004	783.0	0.004	782.5	0.004
782.0	0.004	781.5	0.004	781.0	0.003	780.5	0.003
780.0	0.003	779.5	0.003	779.0	0.003	778.5	0.003
778.0	0.003	777.5	0.003	777.0	0.003	776.5	0.002
776.0	0.002	775.5	0.002	775.0	0.002	774.5	0.001
774.0	0.001	773.5	0.001	773.0	0.001	772.5	0.001
772.0	0.001	771.5	0.001	771.0	0.001	770.5	0.000
770.0	0.000	769.5	0.001	769.0	0.001	768.5	0.001
768.0	0.001	767.5	0.001	767.0	0.001	766.5	0.001
766.0	0.001	765.5	0.001	765.0	0.001	764.5	0.001
764.0	0.000	763.5	0.000	763.0	0.000	762.5	0.000
762.0	0.000	761.5	0.000	761.0	0.000	760.5	0.000
760.0	0.000	759.5	-0.000	759.0	0.000	758.5	0.000
758.0	0.000	757.5	0.000	757.0	0.000	756.5	0.000
756.0	0.000	755.5	0.001	755.0	0.001	754.5	0.001
754.0	0.001	753.5	0.001	753.0	0.001	752.5	0.001
752.0	0.000	751.5	0.000	751.0	0.000	750.5	0.000
750.0	0.001	749.5	0.001	749.0	0.001	748.5	0.001
748.0	0.001	747.5	0.001	747.0	0.002	746.5	0.002
746.0	0.002	745.5	0.002	745.0	0.002	744.5	0.002
744.0	0.002	743.5	0.002	743.0	0.002	742.5	0.002
742.0	0.001	741.5	0.001	741.0	0.001	740.5	0.001
740.0	0.001	739.5	0.001	739.0	0.001	738.5	0.001
738.0	0.001	737.5	0.000	737.0	0.000	736.5	0.000
736.0	0.000	735.5	0.000	735.0	0.001	734.5	0.001
734.0	0.001	733.5	0.001	733.0	0.001	732.5	0.001
732.0	0.001	731.5	0.001	731.0	0.001	730.5	0.001
730.0	0.001	729.5	0.001	729.0	0.001	728.5	0.001
728.0	0.001	727.5	0.001	727.0	0.002	726.5	0.002
726.0	0.002	725.5	0.002	725.0	0.002	724.5	0.002
724.0	0.002	723.5	0.002	723.0	0.002	722.5	0.002
722.0	0.002	721.5	0.002	721.0	0.002	720.5	0.002
720.0	0.002	719.5	0.002	719.0	0.002	718.5	0.002
718.0	0.002	717.5	0.002	717.0	0.002	716.5	0.002
716.0	0.002	715.5	0.002	715.0	0.002	714.5	0.002
714.0	0.002	713.5	0.002	713.0	0.002	712.5	0.002
712.0	0.003	711.5	0.003	711.0	0.003	710.5	0.003
710.0	0.003	709.5	0.003	709.0	0.003	708.5	0.003
708.0	0.003	707.5	0.003	707.0	0.003	706.5	0.003
706.0	0.003	705.5	0.003	705.0	0.003	704.5	0.003
704.0	0.003	703.5	0.003	703.0	0.003	702.5	0.003
702.0	0.003	701.5	0.003	701.0	0.003	700.5	0.003
700.0	0.003	699.5	0.003	699.0	0.004	698.5	0.004
698.0	0.004	697.5	0.004	697.0	0.004	696.5	0.004
696.0	0.004	695.5	0.004	695.0	0.005	694.5	0.005
694.0	0.005	693.5	0.005	693.0	0.005	692.5	0.005
692.0	0.005	691.5	0.005	691.0	0.006	690.5	0.006
690.0	0.006	689.5	0.007	689.0	0.007	688.5	0.007
688.0	0.007	687.5	0.007	687.0	0.007	686.5	0.007

678.0	0.027	675.0	0.029	677.0	0.024	678.0	0.025
674.0	0.035	673.0	0.037	675.0	0.031	674.0	0.033
672.0	0.046	671.0	0.049	673.0	0.040	672.0	0.043
670.0	0.058	669.0	0.062	671.0	0.052	670.0	0.055
668.0	0.071	667.0	0.075	669.0	0.065	668.0	0.068
666.0	0.088	665.0	0.093	667.0	0.079	666.0	0.083
664.0	0.108	663.0	0.114	665.0	0.098	664.0	0.103
662.0	0.130	661.0	0.136	663.0	0.119	662.0	0.125
660.0	0.150	659.0	0.155	661.0	0.141	660.0	0.145
658.0	0.167	657.0	0.171	659.0	0.160	658.0	0.164
656.0	0.179	655.0	0.180	657.0	0.174	656.0	0.176
654.0	0.181	653.0	0.181	655.0	0.181	654.0	0.182
652.0	0.175	651.0	0.172	653.0	0.179	652.0	0.178
650.0	0.161	649.0	0.157	651.0	0.169	650.0	0.166
648.0	0.145	647.0	0.140	649.0	0.153	648.0	0.149
646.0	0.125	645.0	0.120	647.0	0.135	646.0	0.130
644.0	0.104	643.0	0.099	645.0	0.115	644.0	0.109
642.0	0.086	641.0	0.083	643.0	0.095	642.0	0.090
640.0	0.072	639.0	0.069	641.0	0.079	640.0	0.075
638.0	0.060	637.0	0.058	639.0	0.066	638.0	0.063
636.0	0.051	635.0	0.049	637.0	0.055	636.0	0.053
634.0	0.044	633.0	0.042	635.0	0.047	634.0	0.045
632.0	0.039	631.0	0.038	633.0	0.041	632.0	0.040
630.0	0.035	629.0	0.035	631.0	0.037	630.0	0.036
628.0	0.033	627.0	0.033	629.0	0.034	628.0	0.033
626.0	0.031	625.0	0.031	627.0	0.033	626.0	0.032
624.0	0.030	623.0	0.030	625.0	0.031	624.0	0.031
622.0	0.030	621.0	0.030	623.0	0.030	622.0	0.030
620.0	0.030	619.0	0.030	621.0	0.030	620.0	0.030
618.0	0.031	617.0	0.031	619.0	0.030	618.0	0.031
616.0	0.032	615.0	0.032	617.0	0.032	616.0	0.032
614.0	0.034	613.0	0.035	615.0	0.033	614.0	0.034
612.0	0.037	611.0	0.037	613.0	0.036	612.0	0.036
610.0	0.039	609.0	0.040	611.0	0.038	610.0	0.038
608.0	0.041	607.0	0.041	609.0	0.040	608.0	0.041
606.0	0.043	605.0	0.043	607.0	0.042	606.0	0.042
604.0	0.044	603.0	0.045	605.0	0.044	604.0	0.044
602.0	0.045	601.0	0.045	603.0	0.045	602.0	0.045
600.0	0.045	599.0	0.044	601.0	0.045	600.0	0.045
598.0	0.044	597.0	0.043	599.0	0.044	598.0	0.044
596.0	0.042	595.0	0.042	597.0	0.043	596.0	0.043
594.0	0.040	593.0	0.039	595.0	0.041	594.0	0.040
592.0	0.037	591.0	0.037	593.0	0.038	592.0	0.038
590.0	0.035	589.0	0.034	591.0	0.036	590.0	0.036
588.0	0.034	587.0	0.034	589.0	0.034	588.0	0.034
586.0	0.032	585.0	0.032	587.0	0.033	586.0	0.033
584.0	0.031	583.0	0.031	585.0	0.031	584.0	0.031
582.0	0.031	581.0	0.031	583.0	0.031	582.0	0.031
580.0	0.032	579.0	0.033	581.0	0.031	580.0	0.032
578.0	0.033	577.0	0.034	579.0	0.033	578.0	0.034
576.0	0.033	575.0	0.034	577.0	0.034	576.0	0.035
574.0	0.036	573.0	0.037	575.0	0.038	574.0	0.038
572.0	0.039	571.0	0.039	573.0	0.040	572.0	0.040
570.0	0.041	569.0	0.042	571.0	0.042	570.0	0.043
568.0	0.043	567.0	0.044	569.0	0.044	568.0	0.045
566.0	0.045	565.0	0.046	567.0	0.046	566.0	0.046
564.0	0.046	563.0	0.046	565.0	0.046	564.0	0.046
562.0	0.047	561.0	0.047	563.0	0.047	562.0	0.047
560.0	0.046	559.0	0.046	561.0	0.046	560.0	0.046
558.0	0.045	557.0	0.045	559.0	0.046	558.0	0.045
556.0	0.044	555.0	0.044	557.0	0.045	556.0	0.044
554.0	0.044	553.0	0.044	555.0	0.044	554.0	0.043
552.0	0.043	551.0	0.043	553.0	0.044	552.0	0.044
550.0	0.042	549.0	0.042	551.0	0.043	550.0	0.042
548.0	0.043	547.0	0.044	549.0	0.043	548.0	0.043
546.0	0.045	545.0	0.045	547.0	0.044	546.0	0.045
544.0	0.047	543.0	0.047	545.0	0.046	544.0	0.046
542.0	0.048	541.0	0.049	543.0	0.047	542.0	0.048
540.0	0.050	539.0	0.051	541.0	0.049	540.0	0.050
538.0	0.053	537.0	0.053	539.0	0.052	538.0	0.052
536.0	0.055	535.0	0.056	537.0	0.054	536.0	0.055
534.0	0.057	533.0	0.057	535.0	0.056	534.0	0.057
532.0	0.058	531.0	0.059	533.0	0.058	532.0	0.058
530.0	0.059	529.0	0.059	531.0	0.059	530.0	0.059
528.0	0.059	527.0	0.059	529.0	0.059	528.0	0.059
526.0	0.058	525.0	0.058	527.0	0.059	526.0	0.059
524.0	0.057	523.0	0.057	525.0	0.058	524.0	0.057
522.0	0.057	521.0	0.057	523.0	0.057	522.0	0.057

516.0	0.048	513.5	0.047	513.0	0.047	512.5	0.047
514.0	0.048	511.5	0.046	511.0	0.046	510.5	0.045
512.0	0.048	509.5	0.045	509.0	0.045	508.5	0.045
510.0	0.045	507.5	0.044	507.0	0.044	506.5	0.043
508.0	0.044	505.5	0.043	505.0	0.042	504.5	0.042
506.0	0.043	503.5	0.042	503.0	0.042	502.5	0.042
504.0	0.042	501.5	0.042	501.0	0.042	500.5	0.042
502.0	0.042	499.5	0.041	499.0	0.041	498.5	0.041
500.0	0.041	497.5	0.041	497.0	0.041	496.5	0.041
498.0	0.041	495.5	0.041	495.0	0.041	494.5	0.041
496.0	0.041	493.5	0.040	493.0	0.040	492.5	0.040
494.0	0.040	491.5	0.040	491.0	0.040	490.5	0.040
492.0	0.040	489.5	0.040	489.0	0.040	488.5	0.040
490.0	0.040	487.5	0.040	487.0	0.040	486.5	0.040
488.0	0.040	485.5	0.040	485.0	0.040	484.5	0.040
486.0	0.040	483.5	0.040	483.0	0.040	482.5	0.040
484.0	0.040	481.5	0.040	481.0	0.040	480.5	0.040
482.0	0.040	479.5	0.040	479.0	0.040	478.5	0.040
480.0	0.040	477.5	0.040	477.0	0.040	476.5	0.040
478.0	0.040	475.5	0.041	475.0	0.041	474.5	0.041
476.0	0.040	473.5	0.042	473.0	0.042	472.5	0.042
474.0	0.041	471.5	0.043	471.0	0.043	470.5	0.043
472.0	0.042	469.5	0.044	469.0	0.045	468.5	0.045
470.0	0.044	467.5	0.046	467.0	0.047	466.5	0.047
468.0	0.045	465.5	0.049	465.0	0.050	464.5	0.051
466.0	0.048	463.5	0.053	463.0	0.054	462.5	0.055
464.0	0.052	461.5	0.057	461.0	0.059	460.5	0.060
462.0	0.056	459.5	0.064	459.0	0.068	458.5	0.068
460.0	0.062	457.5	0.071	457.0	0.073	456.5	0.076
458.0	0.070	455.5	0.080	455.0	0.083	454.5	0.085
456.0	0.078	453.5	0.091	453.0	0.094	452.5	0.097
454.0	0.088	451.5	0.104	451.0	0.107	450.5	0.111
452.0	0.101	449.5	0.119	449.0	0.122	448.5	0.126
450.0	0.115	447.5	0.134	447.0	0.138	446.5	0.143
448.0	0.129	445.5	0.153	445.0	0.158	444.5	0.165
446.0	0.147	443.5	0.176	443.0	0.182	442.5	0.189
444.0	0.170	441.5	0.203	441.0	0.210	440.5	0.218
442.0	0.198	439.5	0.234	439.0	0.243	438.5	0.251
440.0	0.225	437.5	0.270	437.0	0.280	436.5	0.292
438.0	0.260	435.5	0.314	435.0	0.327	434.5	0.340
436.0	0.303	433.5	0.369	433.0	0.383	432.5	0.398
434.0	0.354	431.5	0.431	431.0	0.448	430.5	0.465
432.0	0.415	429.5	0.501	429.0	0.518	428.5	0.534
430.0	0.483	427.5	0.567	427.0	0.586	426.5	0.605
428.0	0.550	425.5	0.643	425.0	0.661	424.5	0.679
426.0	0.624	423.5	0.710	423.0	0.723	422.5	0.737
424.0	0.696	421.5	0.758	421.0	0.766	420.5	0.772
422.0	0.748	419.5	0.782	419.0	0.784	418.5	0.785
420.0	0.778	417.5	0.781	417.0	0.777	416.5	0.771
418.0	0.784	415.5	0.757	415.0	0.747	414.5	0.737
416.0	0.764	413.5	0.715	413.0	0.704	412.5	0.692
414.0	0.726	411.5	0.667	411.0	0.655	410.5	0.643
412.0	0.679	409.5	0.620	409.0	0.610	408.5	0.602
410.0	0.631	407.5	0.586	407.0	0.576	406.5	0.567
408.0	0.594	405.5	0.551	405.0	0.543	404.5	0.536
406.0	0.559	403.5	0.523	403.0	0.517	402.5	0.511
404.0	0.529	401.5	0.501	401.0	0.496	400.5	0.491
402.0	0.505						
400.0	0.488						



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

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

## ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.008	799.5	0.007	799.0	0.007	798.5	0.007
798.0	0.008	797.5	0.008	797.0	0.008	796.5	0.008
796.0	0.008	795.5	0.008	795.0	0.008	794.5	0.008
794.0	0.008	793.5	0.008	793.0	0.009	792.5	0.009
792.0	0.009	791.5	0.008	791.0	0.009	790.5	0.009
790.0	0.009	789.5	0.009	789.0	0.009	788.5	0.009
788.0	0.008	787.5	0.008	787.0	0.008	786.5	0.009
786.0	0.009	785.5	0.009	785.0	0.009	784.5	0.009
784.0	0.009	783.5	0.009	783.0	0.009	782.5	0.009
782.0	0.009	781.5	0.008	781.0	0.008	780.5	0.008
780.0	0.007	779.5	0.007	779.0	0.007	778.5	0.007
778.0	0.007	777.5	0.007	777.0	0.007	776.5	0.007
776.0	0.007	775.5	0.007	775.0	0.007	774.5	0.006
774.0	0.006	773.5	0.006	773.0	0.006	772.5	0.006
772.0	0.006	771.5	0.005	771.0	0.005	770.5	0.005
770.0	0.006	769.5	0.006	769.0	0.006	768.5	0.006
768.0	0.006	767.5	0.006	767.0	0.006	766.5	0.006
766.0	0.006	765.5	0.006	765.0	0.006	764.5	0.006
764.0	0.006	763.5	0.006	763.0	0.006	762.5	0.006
762.0	0.006	761.5	0.006	761.0	0.006	760.5	0.006
760.0	0.006	759.5	0.005	759.0	0.005	758.5	0.005
758.0	0.005	757.5	0.005	757.0	0.006	756.5	0.006
756.0	0.006	755.5	0.006	755.0	0.006	754.5	0.006
754.0	0.006	753.5	0.006	753.0	0.006	752.5	0.006
752.0	0.006	751.5	0.006	751.0	0.006	750.5	0.005
750.0	0.006	749.5	0.006	749.0	0.006	748.5	0.006
748.0	0.006	747.5	0.006	747.0	0.006	746.5	0.006
746.0	0.006	745.5	0.006	745.0	0.006	744.5	0.006
744.0	0.006	743.5	0.006	743.0	0.007	742.5	0.007
742.0	0.006	741.5	0.006	741.0	0.006	740.5	0.007
740.0	0.007	739.5	0.007	739.0	0.007	738.5	0.007
738.0	0.007	737.5	0.007	737.0	0.007	736.5	0.007
736.0	0.007	735.5	0.007	735.0	0.007	734.5	0.007
734.0	0.007	733.5	0.007	733.0	0.007	732.5	0.007
732.0	0.007	731.5	0.007	731.0	0.007	730.5	0.007
730.0	0.008	729.5	0.008	729.0	0.008	728.5	0.008
728.0	0.008	727.5	0.008	727.0	0.008	726.5	0.008
726.0	0.008	725.5	0.008	725.0	0.008	724.5	0.008
724.0	0.008	723.5	0.008	723.0	0.008	722.5	0.008
722.0	0.008	721.5	0.008	721.0	0.008	720.5	0.009
720.0	0.008	719.5	0.008	719.0	0.008	718.5	0.009
718.0	0.009	717.5	0.009	717.0	0.009	716.5	0.009
716.0	0.009	715.5	0.009	715.0	0.009	714.5	0.009
714.0	0.009	713.5	0.009	713.0	0.009	712.5	0.009
712.0	0.009	711.5	0.009	711.0	0.009	710.5	0.010
710.0	0.010	709.5	0.010	709.0	0.010	708.5	0.010
708.0	0.010	707.5	0.010	707.0	0.010	706.5	0.010
706.0	0.011	705.5	0.011	705.0	0.011	704.5	0.011
704.0	0.011	703.5	0.011	703.0	0.011	702.5	0.011
702.0	0.011	701.5	0.011	701.0	0.011	700.5	0.011
700.0	0.011	699.5	0.011	699.0	0.011	698.5	0.011
698.0	0.012	697.5	0.012	697.0	0.012	696.5	0.012
696.0	0.012	695.5	0.012	695.0	0.012	694.5	0.012
694.0	0.013	693.5	0.013	693.0	0.013	692.5	0.013
692.0	0.014	691.5	0.014	691.0	0.014	690.5	0.014
690.0	0.014	689.5	0.015	689.0	0.015	688.5	0.015
688.0	0.016	687.5	0.016	687.0	0.016	686.5	0.017
686.0	0.017	685.5	0.018	685.0	0.018	684.5	0.019
684.0	0.019	683.5	0.020	683.0	0.021	682.5	0.022
682.0	0.023	681.5	0.024	681.0	0.024	680.5	0.025
680.0	0.026	679.5	0.028	679.0	0.029	678.5	0.030
678.0	0.031	677.5	0.033	677.0	0.034	676.5	0.036
676.0	0.036	675.5	0.040	675.0	0.042	674.5	0.044
674.0	0.046	673.5	0.049	673.0	0.051	672.5	0.054
672.0	0.057	671.5	0.060	671.0	0.063	670.5	0.067
670.0	0.070	669.5	0.074	669.0	0.077	668.5	0.081
668.0	0.085	667.5	0.089	667.0	0.093	666.5	0.098
666.0	0.103	665.5	0.108	665.0	0.113	664.5	0.119

658.0	0.191	657.5	0.195	657.0	0.199	656.5	0.202
653.0	0.205	655.5	0.208	655.0	0.210	654.5	0.211
654.0	0.212	653.5	0.212	653.0	0.212	652.5	0.211
652.0	0.209	651.5	0.207	651.0	0.204	650.5	0.201
650.0	0.197	649.5	0.193	649.0	0.189	648.5	0.185
648.0	0.180	647.5	0.176	647.0	0.171	646.5	0.166
646.0	0.160	645.5	0.155	645.0	0.149	644.5	0.144
644.0	0.138	643.5	0.133	643.0	0.127	642.5	0.122
642.0	0.113	641.5	0.113	641.0	0.109	640.5	0.105
640.0	0.101	639.5	0.097	639.0	0.093	638.5	0.089
639.0	0.086	637.5	0.083	637.0	0.080	636.5	0.077
638.0	0.074	635.5	0.072	635.0	0.069	634.5	0.067
634.0	0.065	633.5	0.063	633.0	0.061	632.5	0.060
632.0	0.058	631.5	0.057	631.0	0.055	630.5	0.054
630.0	0.053	629.5	0.052	629.0	0.051	628.5	0.050
628.0	0.050	627.5	0.049	627.0	0.048	626.5	0.048
626.0	0.047	625.5	0.047	625.0	0.047	624.5	0.046
624.0	0.046	623.5	0.046	623.0	0.045	622.5	0.045
622.0	0.045	621.5	0.045	621.0	0.045	620.5	0.045
620.0	0.045	619.5	0.045	619.0	0.045	618.5	0.045
618.0	0.046	617.5	0.046	617.0	0.046	616.5	0.047
616.0	0.048	615.5	0.048	615.0	0.048	614.5	0.049
614.0	0.049	613.5	0.050	613.0	0.051	612.5	0.051
612.0	0.052	611.5	0.052	611.0	0.053	610.5	0.054
610.0	0.054	609.5	0.055	609.0	0.055	608.5	0.056
608.0	0.056	607.5	0.057	607.0	0.057	606.5	0.058
606.0	0.058	605.5	0.059	605.0	0.059	604.5	0.060
604.0	0.060	603.5	0.060	603.0	0.061	602.5	0.061
602.0	0.061	601.5	0.061	601.0	0.061	600.5	0.061
600.0	0.061	599.5	0.060	599.0	0.060	598.5	0.060
598.0	0.060	597.5	0.060	597.0	0.059	596.5	0.059
596.0	0.058	595.5	0.058	595.0	0.057	594.5	0.057
594.0	0.056	593.5	0.056	593.0	0.055	592.5	0.055
592.0	0.054	591.5	0.053	591.0	0.053	590.5	0.052
590.0	0.052	589.5	0.051	589.0	0.051	588.5	0.050
588.0	0.049	587.5	0.049	587.0	0.049	586.5	0.048
586.0	0.048	585.5	0.048	585.0	0.048	584.5	0.048
584.0	0.048	583.5	0.048	583.0	0.047	582.5	0.047
582.0	0.048	581.5	0.048	581.0	0.049	580.5	0.049
580.0	0.050	579.5	0.050	579.0	0.051	578.5	0.052
578.0	0.052	577.5	0.053	577.0	0.053	576.5	0.053
576.0	0.053	575.5	0.054	575.0	0.055	574.5	0.056
574.0	0.056	573.5	0.056	573.0	0.057	572.5	0.057
572.0	0.058	571.5	0.059	571.0	0.059	570.5	0.060
570.0	0.061	569.5	0.062	569.0	0.062	568.5	0.062
568.0	0.062	567.5	0.063	567.0	0.063	566.5	0.064
566.0	0.064	565.5	0.064	565.0	0.065	564.5	0.065
564.0	0.065	563.5	0.065	563.0	0.065	562.5	0.065
562.0	0.066	561.5	0.066	561.0	0.066	560.5	0.065
560.0	0.065	559.5	0.065	559.0	0.065	558.5	0.064
558.0	0.064	557.5	0.063	557.0	0.063	556.5	0.063
556.0	0.063	555.5	0.063	555.0	0.063	554.5	0.063
554.0	0.063	553.5	0.063	553.0	0.063	552.5	0.062
552.0	0.062	551.5	0.061	551.0	0.061	550.5	0.061
550.0	0.060	549.5	0.061	549.0	0.061	548.5	0.062
548.0	0.062	547.5	0.062	547.0	0.062	546.5	0.063
546.0	0.063	545.5	0.063	545.0	0.063	544.5	0.064
544.0	0.064	543.5	0.065	543.0	0.065	542.5	0.066
542.0	0.067	541.5	0.067	541.0	0.068	540.5	0.069
540.0	0.070	539.5	0.070	539.0	0.071	538.5	0.072
538.0	0.072	537.5	0.073	537.0	0.074	536.5	0.075
536.0	0.076	535.5	0.076	535.0	0.077	534.5	0.078
534.0	0.078	533.5	0.079	533.0	0.079	532.5	0.079
532.0	0.080	531.5	0.081	531.0	0.082	530.5	0.082
530.0	0.082	529.5	0.082	529.0	0.083	528.5	0.083
528.0	0.082	527.5	0.082	527.0	0.083	526.5	0.083
526.0	0.083	525.5	0.083	525.0	0.083	524.5	0.082
524.0	0.082	523.5	0.082	523.0	0.082	522.5	0.082
522.0	0.081	521.5	0.081	521.0	0.080	520.5	0.080
520.0	0.079	519.5	0.079	519.0	0.078	518.5	0.078
518.0	0.077	517.5	0.077	517.0	0.076	516.5	0.075
516.0	0.074	515.5	0.074	515.0	0.074	514.5	0.073
514.0	0.072	513.5	0.071	513.0	0.071	512.5	0.071
512.0	0.070	511.5	0.070	511.0	0.069	510.5	0.069
510.0	0.069	509.5	0.068	509.0	0.068	508.5	0.067
508.0	0.067	507.5	0.067	507.0	0.066	506.5	0.066
506.0	0.066	505.5	0.065	505.0	0.065	504.5	0.065

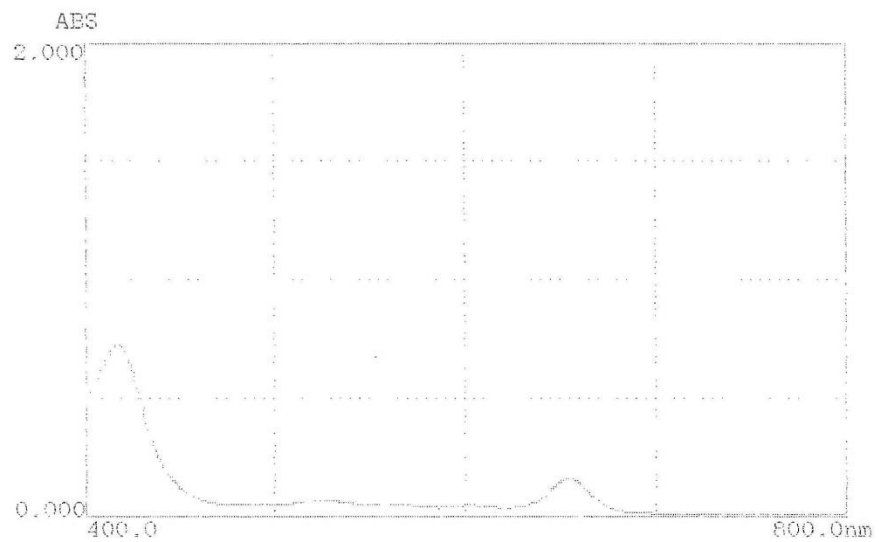


488.0	0.064	487.5	0.064	487.0	0.064	486.5	0.064
486.0	0.064	485.5	0.064	485.0	0.064	484.5	0.064
484.0	0.064	483.5	0.064	483.0	0.064	482.5	0.064
482.0	0.064	481.5	0.064	481.0	0.064	480.5	0.064
480.0	0.064	479.5	0.064	479.0	0.064	478.5	0.064
478.0	0.064	477.5	0.064	477.0	0.064	476.5	0.064
476.0	0.064	475.5	0.064	475.0	0.064	474.5	0.064
474.0	0.064	473.5	0.064	473.0	0.065	472.5	0.065
472.0	0.065	471.5	0.065	471.0	0.065	470.5	0.065
480.0	0.066	479.5	0.066	479.0	0.066	478.5	0.066
478.0	0.066	477.5	0.066	477.0	0.067	476.5	0.067
476.0	0.067	475.5	0.068	475.0	0.068	474.5	0.068
474.0	0.069	473.5	0.069	473.0	0.070	472.5	0.070
472.0	0.071	471.5	0.071	471.0	0.071	470.5	0.072
470.0	0.073	469.5	0.073	469.0	0.074	468.5	0.075
468.0	0.076	467.5	0.076	467.0	0.077	466.5	0.078
466.0	0.078	465.5	0.079	465.0	0.081	464.5	0.082
464.0	0.083	463.5	0.084	463.0	0.086	462.5	0.087
462.0	0.089	461.5	0.091	461.0	0.092	460.5	0.094
460.0	0.096	459.5	0.098	459.0	0.100	458.5	0.102
458.0	0.104	457.5	0.106	457.0	0.109	456.5	0.112
456.0	0.114	455.5	0.117	455.0	0.120	454.5	0.124
454.0	0.127	453.5	0.131	453.0	0.135	452.5	0.138
452.0	0.142	451.5	0.146	451.0	0.150	450.5	0.154
450.0	0.158	449.5	0.164	449.0	0.168	448.5	0.173
448.0	0.177	447.5	0.182	447.0	0.187	446.5	0.193
446.0	0.199	445.5	0.206	445.0	0.213	444.5	0.220
444.0	0.226	443.5	0.233	443.0	0.241	442.5	0.249
442.0	0.257	441.5	0.265	441.0	0.274	440.5	0.283
440.0	0.292	439.5	0.302	439.0	0.312	438.5	0.322
438.0	0.322	437.5	0.343	437.0	0.355	436.5	0.368
436.0	0.381	435.5	0.395	435.0	0.410	434.5	0.425
434.0	0.441	433.5	0.457	433.0	0.473	432.5	0.489
432.0	0.507	431.5	0.525	431.0	0.543	430.5	0.561
430.0	0.582	429.5	0.604	429.0	0.624	428.5	0.641
428.0	0.659	427.5	0.677	427.0	0.699	426.5	0.719
426.0	0.741	425.5	0.762	425.0	0.784	424.5	0.805
424.0	0.824	423.5	0.841	423.0	0.858	422.5	0.875
422.0	0.890	421.5	0.904	421.0	0.916	420.5	0.927
420.0	0.937	419.5	0.945	419.0	0.951	418.5	0.956
418.0	0.958	417.5	0.959	417.0	0.959	416.5	0.957
416.0	0.954	415.5	0.949	415.0	0.943	414.5	0.936
414.0	0.928	413.5	0.918	413.0	0.909	412.5	0.898
412.0	0.886	411.5	0.875	411.0	0.864	410.5	0.852
410.0	0.840	409.5	0.827	409.0	0.815	408.5	0.805
408.0	0.795	407.5	0.784	407.0	0.772	406.5	0.760
406.0	0.749	405.5	0.737	405.0	0.725	404.5	0.714
404.0	0.704	403.5	0.695	403.0	0.684	402.5	0.675
402.0	0.666	401.5	0.658	401.0	0.650	400.5	0.642
400.0	0.637						

## C.3 ABSORBANSI EKSTRAK DAUN SIRSAK PATRANG

U-1200 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116  
ROM Version: 07  
Sample Name:  
Date:  
Operator:



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

Wavelength Scan  
 Data Mode: ABS  
 Scan Range: 300.0-400.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 400nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

## ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.006	799.5	0.006	799.0	0.006	798.5	0.006
798.0	0.007	797.5	0.007	797.0	0.007	796.5	0.007
796.0	0.007	795.5	0.007	795.0	0.007	794.5	0.007
794.0	0.007	793.5	0.007	793.0	0.007	792.5	0.007
792.0	0.007	791.5	0.007	791.0	0.007	790.5	0.007
790.0	0.007	789.5	0.007	789.0	0.007	788.5	0.007
788.0	0.006	787.5	0.006	787.0	0.006	786.5	0.007
786.0	0.007	785.5	0.007	785.0	0.007	784.5	0.007
784.0	0.007	783.5	0.007	783.0	0.007	782.5	0.007
782.0	0.007	781.5	0.006	781.0	0.006	780.5	0.006
780.0	0.006	779.5	0.006	779.0	0.006	778.5	0.006
778.0	0.005	777.5	0.006	777.0	0.006	776.5	0.005
776.0	0.005	775.5	0.005	775.0	0.005	774.5	0.004
774.0	0.004	773.5	0.004	773.0	0.004	772.5	0.004
772.0	0.004	771.5	0.004	771.0	0.004	770.5	0.004
770.0	0.004	769.5	0.004	769.0	0.004	768.5	0.004
768.0	0.004	767.5	0.004	767.0	0.004	766.5	0.004
766.0	0.004	765.5	0.004	765.0	0.004	764.5	0.004
764.0	0.004	763.5	0.004	763.0	0.004	762.5	0.004
762.0	0.004	761.5	0.004	761.0	0.004	760.5	0.004
760.0	0.004	759.5	0.003	759.0	0.003	758.5	0.003
758.0	0.003	757.5	0.004	757.0	0.004	756.5	0.004
756.0	0.004	755.5	0.004	755.0	0.004	754.5	0.004
754.0	0.004	753.5	0.004	753.0	0.004	752.5	0.004
752.0	0.004	751.5	0.003	751.0	0.003	750.5	0.003
750.0	0.004	749.5	0.004	749.0	0.004	748.5	0.003
748.0	0.003	747.5	0.003	747.0	0.004	746.5	0.004
746.0	0.004	745.5	0.004	745.0	0.004	744.5	0.004
744.0	0.004	743.5	0.004	743.0	0.004	742.5	0.004
742.0	0.004	741.5	0.004	741.0	0.004	740.5	0.005
740.0	0.005	739.5	0.005	739.0	0.005	738.5	0.005
738.0	0.005	737.5	0.005	737.0	0.005	736.5	0.005
736.0	0.005	735.5	0.005	735.0	0.005	734.5	0.005
734.0	0.005	733.5	0.005	733.0	0.005	732.5	0.005
732.0	0.005	731.5	0.005	731.0	0.005	730.5	0.005
730.0	0.005	729.5	0.005	729.0	0.006	728.5	0.006
728.0	0.006	727.5	0.006	727.0	0.006	726.5	0.006
726.0	0.006	725.5	0.006	725.0	0.006	724.5	0.006
724.0	0.006	723.5	0.006	723.0	0.006	722.5	0.006
722.0	0.006	721.5	0.006	721.0	0.006	720.5	0.006
720.0	0.006	719.5	0.006	719.0	0.006	718.5	0.006
718.0	0.006	717.5	0.006	717.0	0.006	716.5	0.006
716.0	0.006	715.5	0.006	715.0	0.006	714.5	0.006
714.0	0.006	713.5	0.006	713.0	0.006	712.5	0.006
712.0	0.007	711.5	0.007	711.0	0.007	710.5	0.007
710.0	0.007	709.5	0.007	709.0	0.007	708.5	0.007
708.0	0.007	707.5	0.007	707.0	0.007	706.5	0.007
706.0	0.007	705.5	0.007	705.0	0.007	704.5	0.007
704.0	0.007	703.5	0.007	703.0	0.007	702.5	0.007
702.0	0.008	701.5	0.008	701.0	0.008	700.5	0.008
700.0	0.008	699.5	0.008	699.0	0.008	698.5	0.008
698.0	0.008	697.5	0.008	697.0	0.008	696.5	0.008
696.0	0.009	695.5	0.009	695.0	0.009	694.5	0.009
694.0	0.009	693.5	0.010	693.0	0.010	692.5	0.010
692.0	0.010	691.5	0.010	691.0	0.010	690.5	0.011
690.0	0.011	689.5	0.011	689.0	0.011	688.5	0.011
688.0	0.012	687.5	0.012	687.0	0.012	686.5	0.013
686.0	0.013	685.5	0.014	685.0	0.014	684.5	0.015
684.0	0.015	683.5	0.015	683.0	0.016	682.5	0.017
682.0	0.017	681.5	0.018	681.0	0.019	680.5	0.019
680.0	0.020	679.5	0.021	679.0	0.022	678.5	0.023
678.0	0.024	677.5	0.025	677.0	0.026	676.5	0.028
676.0	0.029	675.5	0.031	675.0	0.032	674.5	0.034
674.0	0.036	673.5	0.038	673.0	0.039	672.5	0.041
672.0	0.044	671.5	0.048	671.0	0.048	670.5	0.051
670.0	0.053	669.5	0.056	669.0	0.058	668.5	0.061
668.0	0.061	667.5	0.068	667.0	0.070	666.5	0.073

660.0	0.124	659.0	0.133	658.5	0.136
658.0	0.129	657.0	0.145	656.5	0.148
656.0	0.130	655.0	0.154	654.5	0.155
654.0	0.156	653.0	0.157	652.5	0.156
652.0	0.155	651.0	0.152	650.5	0.150
650.0	0.147	649.0	0.142	648.5	0.139
648.0	0.136	647.5	0.129	646.5	0.125
646.0	0.122	645.0	0.114	644.5	0.109
644.0	0.105	643.0	0.097	642.5	0.093
642.0	0.090	641.0	0.083	640.5	0.080
640.0	0.077	639.0	0.071	638.5	0.068
638.0	0.065	637.0	0.060	636.5	0.058
636.0	0.056	635.0	0.052	634.5	0.050
634.0	0.049	633.0	0.046	632.5	0.044
632.0	0.043	631.0	0.041	630.5	0.040
630.0	0.039	629.0	0.037	628.5	0.037
628.0	0.036	627.0	0.035	626.5	0.035
626.0	0.035	625.0	0.034	624.5	0.033
624.0	0.033	623.0	0.033	622.5	0.032
622.0	0.032	621.0	0.032	620.5	0.032
620.0	0.032	619.0	0.032	618.5	0.033
618.0	0.033	617.0	0.033	616.5	0.033
616.0	0.033	615.0	0.034	614.5	0.034
614.0	0.035	613.0	0.035	612.5	0.036
612.0	0.036	611.0	0.037	610.5	0.037
610.0	0.038	609.0	0.038	608.5	0.039
608.0	0.039	607.0	0.039	606.5	0.040
606.0	0.041	605.0	0.041	604.5	0.042
604.0	0.042	603.0	0.042	602.5	0.043
602.0	0.043	601.0	0.043	600.5	0.043
600.0	0.043	599.0	0.042	598.5	0.042
598.0	0.042	597.0	0.041	596.5	0.041
596.0	0.041	595.0	0.040	594.5	0.040
594.0	0.040	593.0	0.039	592.5	0.038
592.0	0.038	591.0	0.037	590.5	0.037
590.0	0.036	589.0	0.036	588.5	0.036
588.0	0.035	587.0	0.034	586.5	0.034
586.0	0.034	585.0	0.032	584.5	0.033
584.0	0.034	583.0	0.034	582.5	0.034
582.0	0.035	581.0	0.035	580.5	0.036
580.0	0.036	579.0	0.037	578.5	0.038
578.0	0.038	577.0	0.038	576.5	0.037
576.0	0.036	575.0	0.039	574.5	0.039
574.0	0.039	573.0	0.040	572.5	0.040
572.0	0.041	571.0	0.042	570.5	0.042
570.0	0.042	569.0	0.044	568.5	0.044
568.0	0.045	567.0	0.045	566.5	0.045
566.0	0.046	565.0	0.046	564.5	0.046
564.0	0.047	563.0	0.047	562.5	0.047
562.0	0.047	561.0	0.047	560.5	0.047
560.0	0.047	559.0	0.047	558.5	0.046
558.0	0.046	557.0	0.045	556.5	0.045
556.0	0.045	555.0	0.045	554.5	0.045
554.0	0.045	553.0	0.045	552.5	0.045
552.0	0.044	551.0	0.043	550.5	0.043
550.0	0.043	549.0	0.044	548.5	0.044
548.0	0.044	547.0	0.045	546.5	0.046
546.0	0.046	545.0	0.046	544.5	0.047
544.0	0.047	543.0	0.048	542.5	0.048
542.0	0.049	541.0	0.049	540.5	0.050
540.0	0.050	539.0	0.052	538.5	0.052
538.0	0.053	537.0	0.054	536.5	0.054
536.0	0.055	535.0	0.056	534.5	0.057
534.0	0.053	533.0	0.052	532.5	0.059
532.0	0.059	531.0	0.060	530.5	0.061
530.0	0.061	529.0	0.062	528.5	0.062
528.0	0.062	527.0	0.061	526.5	0.061
526.0	0.061	525.0	0.061	524.5	0.061
524.0	0.061	523.0	0.062	522.5	0.061
522.0	0.061	521.0	0.060	520.5	0.060
520.0	0.060	519.0	0.059	518.5	0.059
518.0	0.058	517.0	0.057	516.5	0.057
516.0	0.056	515.0	0.055	514.5	0.055
514.0	0.054	513.0	0.054	512.5	0.053
512.0	0.053	511.0	0.052	510.5	0.052
510.0	0.051	509.0	0.051	508.5	0.050
508.0	0.050	507.0	0.049	506.5	0.049
506.0	0.048	505.0	0.047	504.5	0.047

498.0	0.047	497.5	0.047	497.0	0.047	496.5	0.046
496.0	0.046	495.5	0.046	495.0	0.046	494.5	0.046
494.0	0.046	493.5	0.046	493.0	0.046	492.5	0.046
492.0	0.046	491.5	0.046	491.0	0.046	490.5	0.046
490.0	0.046	489.5	0.046	489.0	0.046	488.5	0.046
488.0	0.046	487.5	0.045	487.0	0.045	486.5	0.045
486.0	0.045	485.5	0.045	485.0	0.045	484.5	0.045
484.0	0.045	483.5	0.045	483.0	0.045	482.5	0.045
482.0	0.045	481.5	0.045	481.0	0.045	480.5	0.045
480.0	0.045	479.5	0.046	479.0	0.046	478.5	0.046
478.0	0.046	477.5	0.046	477.0	0.046	476.5	0.046
476.0	0.046	475.5	0.047	475.0	0.047	474.5	0.047
474.0	0.047	473.5	0.048	473.0	0.048	472.5	0.048
472.0	0.048	471.5	0.048	471.0	0.049	470.5	0.049
470.0	0.050	469.5	0.050	469.0	0.050	468.5	0.050
468.0	0.050	467.5	0.051	467.0	0.052	466.5	0.052
466.0	0.053	465.5	0.054	465.0	0.055	464.5	0.055
464.0	0.056	463.5	0.057	463.0	0.058	462.5	0.059
462.0	0.060	461.5	0.061	461.0	0.062	460.5	0.063
460.0	0.064	459.5	0.066	459.0	0.068	458.5	0.069
458.0	0.071	457.5	0.073	457.0	0.074	456.5	0.076
456.0	0.078	455.5	0.080	455.0	0.082	454.5	0.084
454.0	0.087	453.5	0.089	453.0	0.092	452.5	0.095
452.0	0.098	451.5	0.101	451.0	0.104	450.5	0.107
450.0	0.110	449.5	0.113	449.0	0.117	448.5	0.119
448.0	0.122	447.5	0.126	447.0	0.131	446.5	0.135
446.0	0.140	445.5	0.144	445.0	0.149	444.5	0.155
444.0	0.160	443.5	0.164	443.0	0.170	442.5	0.176
442.0	0.182	441.5	0.186	441.0	0.194	440.5	0.200
440.0	0.208	439.5	0.216	439.0	0.223	438.5	0.230
438.0	0.238	437.5	0.246	437.0	0.254	436.5	0.263
436.0	0.272	435.5	0.282	435.0	0.293	434.5	0.304
434.0	0.316	433.5	0.328	433.0	0.340	432.5	0.352
432.0	0.365	431.5	0.379	431.0	0.391	430.5	0.405
430.0	0.420	429.5	0.436	429.0	0.451	428.5	0.464
428.0	0.477	427.5	0.492	427.0	0.508	426.5	0.524
426.0	0.540	425.5	0.556	425.0	0.572	424.5	0.589
424.0	0.605	423.5	0.618	423.0	0.632	422.5	0.646
422.0	0.659	421.5	0.670	421.0	0.680	420.5	0.690
420.0	0.699	419.5	0.707	419.0	0.714	418.5	0.718
418.0	0.722	417.5	0.725	417.0	0.727	416.5	0.737
416.0	0.727	415.5	0.725	415.0	0.722	414.5	0.718
414.0	0.714	413.5	0.709	413.0	0.703	412.5	0.696
412.0	0.689	411.5	0.680	411.0	0.672	410.5	0.663
410.0	0.655	409.5	0.646	409.0	0.637	408.5	0.629
408.0	0.622	407.5	0.613	407.0	0.603	406.5	0.593
406.0	0.584	405.5	0.574	405.0	0.564	404.5	0.555
404.0	0.546	403.5	0.537	403.0	0.529	402.5	0.520
402.0	0.513	401.5	0.505	401.0	0.498	400.5	0.492
400.0	0.487						

## LAMPIRAN D. PERHITUNGAN

1. % Bobot rendemen serbuk daun sirsak dari tiga lokasi

$$\text{Ekstrak} = \frac{350 \text{ g}}{2200 \text{ g}} \times 100 \% = 15,91 \%$$

2. % Bobot rendemen ekstrak

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak (P)} &= \frac{25,78 \text{ g}}{350 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 7,37 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak (A)} &= \frac{24,16 \text{ g}}{350 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 6,90 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak (S)} &= \frac{20,79 \text{ g}}{350 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 5,94 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

Ekstrak (P) = Ekstrak daun sirsak dari Patrang

Ekstrak (A) = Ekstrak daun sirsak dari Ambulu

Ekstrak (S) = Ekstrak daun sirsak dari Sumbersari

3. Perhitungan konsentrasi DPPH

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

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

4. Perhitungan Konsentrasi larutan standar

Standarasamgalat (3 kali replikasi)

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

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

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

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

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

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

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

5. Perhitungan konsentrasi larutan uji dari tiga ekstrak daun sirsak berbeda lokasi

Ekstrak (3 kali replikasi)

$$\frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 10.000 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 10.000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$\frac{2,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 240 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 240 \text{ ppm} = 120 \text{ ppm}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 200 \text{ ppm}$$

$$\frac{8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 200 \text{ ppm} = 160 \text{ ppm}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 160 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm}$$

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

6. Perhitungan Absorbansi pada 3 panjang gelombang

Rumus:

$$A_{hit} = A_{hit_{515}} - \left( \frac{A_{hit_{495}} + A_{hit_{535}}}{2} \right)$$

Contoh perhitungan:

$$A_{hit} = 0,628 - \left( \frac{0,529 + 0,589}{2} \right)$$

$$= 0,069$$

## 7. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

Rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \left(1 - \frac{A_{\text{hit}}}{A_{\text{DPPH}}}\right) \times 100 \%$$

Contoh perhitungan:

$$\% \text{ peredaman} = \left(1 - \frac{0,069}{0,095}\right) \times 100 \% = 27,368 \%$$

## 8. Pembuatan larutan folin

1 ml Folin diencerkan dengan aquades ad 10 ml

9. Pembuatan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 %750 mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dilarutkan dalam aquades ad 10 ml10. Pada jurnal (Caghabi *et al.*, 2014)

Larutan uji 0,3 ml ditambah 1,5 ml reagen Folin, didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 1,2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5 %, didiamkan selama 30 menit dan diamati pada panjang gelombang 765 nm dengan spektrofotometer UV Vis.

Penelitian:

Larutan total dalam kuvet 1 ml

$$\text{Ekstrak/standar} = \frac{0,3 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

$$\text{Folin} = \frac{1,5 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Na}_2\text{CO}_3 = \frac{1,2 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$$

## 11. Pembuatan larutan standar asam galat (3 kali replikasi)

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

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

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

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



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

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

## 12. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak (P) (3 kali replikasi)

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

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

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

Ekstrak (S) (3 kali replikasi)

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

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

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000,4 \text{ ppm}$$

Ekstrak (A) (3 kali replikasi)

$$\frac{25,1 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000,4 \text{ ppm}$$

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

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

## 13. Pembuatan Blangko Negatif

0,1 ml akuades, ditambahkan 0,5 ml reagen Folin dan 0,4 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5 %

## 14. Pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 765 nm

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi rata2
50	1	0,453	0,447
	2	0,475	
	3	0,412	
100	1	0,693	0,682
	2	0,683	
	3	0,671	
150	1	0,943	1,037
	2	1,127	
	3	1,041	
200	1	1,204	1,308
	2	1,306	
	3	1,414	
250	1	1,484	1,482
	2	1,480	
	3	1,482	

Lokasi	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi rata-rata
Ambulu	1000,4	1	0,850	0,858
	1000	2	0,866	
	1000	3	0,859	
Sumbersari	1000	1	0,725	0,729
	1000	2	0,737	
	1000,4	3	0,726	
Patrang	1000	1	0,723	0,715
	1000	2	0,705	
	1000	3	0,718	

Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh, yaitu :  $y = 0,005x + 0,182$  ( $R^2 = 0,988$ ).

Berdasarkan persamaan yang telah didapatkan, dapat diketahui nilai x atau kandungan polifenol total larutan residu daun sirsak ekuivalen asam galat dengan memasukkan nilai absorbansi sampel daun sirsak ke y. Berikut contoh penghitungannya:

$$Y = 0,005x + 0,182$$

$$0,850 = 0,005x + 0,182$$

$$0,005x = 0,850 - 0,182$$

$$X = 133,6 \mu\text{g GAE} / \text{ml larutan residu}$$

Kemudian, dapat ditentukan kandungan polifenol per berat sampel daun sirsak dengan mengalikan nilai kandungan polifenol total larutan residu tersebut dengan volum larutan per berat sampel kering dan selanjutnya dikalikan dengan faktor pengenceran sampel.

Contoh perhitungan, yaitu:

$$\begin{aligned} 133,6 \mu\text{g GAE} / \text{ml} \times \frac{25 \text{ ml}}{350 \text{ g}} \times 1 &= 9,543 \mu\text{g GAE} / \text{g simplisia} \\ &= 0,9543 \text{ mg GAE} / 100 \text{ g simplisia} \end{aligned}$$

#### 15. Perhitungan Simpangan Deviasi

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

Contoh:

$$SD = \sqrt{\frac{(0,9543-0,9657)^2 + (0,9771-0,9657)^2 + (0,9671-0,9657)^2}{2}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,00013) + (0,00013) + (0,000002)}{2}}$$

$$= 0,0114$$

#### 16. Pembuatan larutan $\text{AlCl}_3$ 2 %

500 mg  $\text{AlCl}_3$  dilarutkan dalam etanol ad 25 ml

#### 17. Pada jurnal

Larutan uji 0,5 ml ditambah 0,5 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  2 %, didiamkan selama 60 menit dan diamati pada panjang gelombang 420 nm dengan spektrofotometer UV Vis.

Penelitian:

Larutan total dalam kuvet 1 ml

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

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

18. Pembuatan larutan standar kuersetin (3 kali replikasi)

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

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

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

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

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

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

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

19. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak (P) (3 kali replikasi)

$$\frac{10,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 1030 \text{ ppm}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1030 \text{ ppm} = 103 \text{ ppm}$$

Ekstrak (S) (3 kali replikasi)

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

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

Ekstrak (A) (3 kali replikasi)

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

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

20. Pembuatan Blangko Negatif

0,5 ml etanol, ditambahkan 0,5 ml  $\text{AlCl}_3$

## 21. Pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 420 nm

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi rata-rata
20	1	0,343	0,346
	2	0,336	
	3	0,360	
40	1	0,583	0,652
	2	0,719	
	3	0,655	
60	1	0,973	1,088
	2	1,171	
	3	1,121	
80	1	1,268	1,315
	2	1,390	
	3	1,287	
100	1	1,500	1,559
	2	1,564	
	3	1,614	

Lokasi	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi rata-rata
Ambulu	100	1	0,380	0,384
	100	2	0,387	
	100	3	0,386	
Sumpersari	100	1	0,364	0,359
	100	2	0,384	
	100	3	0,328	
Patrang	103	1	0,348	0,347
	103	2	0,341	
	103	3	0,352	

Persamaan kurva kalibrasi kuersetin yang diperoleh yaitu  $y = 0,015x + 0,031$  ( $R^2 = 0,991$ ). Berdasarkan persamaan yang telah didapatkan, dapat diketahui nilai  $x$  atau kandungan flavonoid total larutan residu daun sirsak ekuivalen kuersetin dengan memasukkan nilai absorbansi sampel daun sirsak ke  $y$ . Berikut contoh penghitungannya:

$$Y = 0,015x + 0,031$$

$$0,380 = 0,015x + 0,031$$

$$0,015x = 0,380 - 0,031$$

$$X = 23,27 \mu\text{g QE} / \text{ml larutan residu}$$

Kemudian, dapat ditentukan dengan flavonoid per berat sampel daun sirsak dengan mengalikan nilai kandungan flavonoid total larutan residu tersebut dengan volum larutan per berat sampel kering dan selanjutnya dikalikan dengan faktor pengenceran sampel.

Misalnya:

$$\text{Faktor pengenceran} = 10$$

$$23,27 \mu\text{g QE} / \text{ml} \times \frac{10 \text{ ml}}{350 \text{ g}} \times 10 = 6,648 \mu\text{g QE} / \text{g simplisia}$$

$$= 0,6648 \text{ mg QE} / 100 \text{ g simplisia}$$

#### 21. Perhitungan Simpangan Deviasi

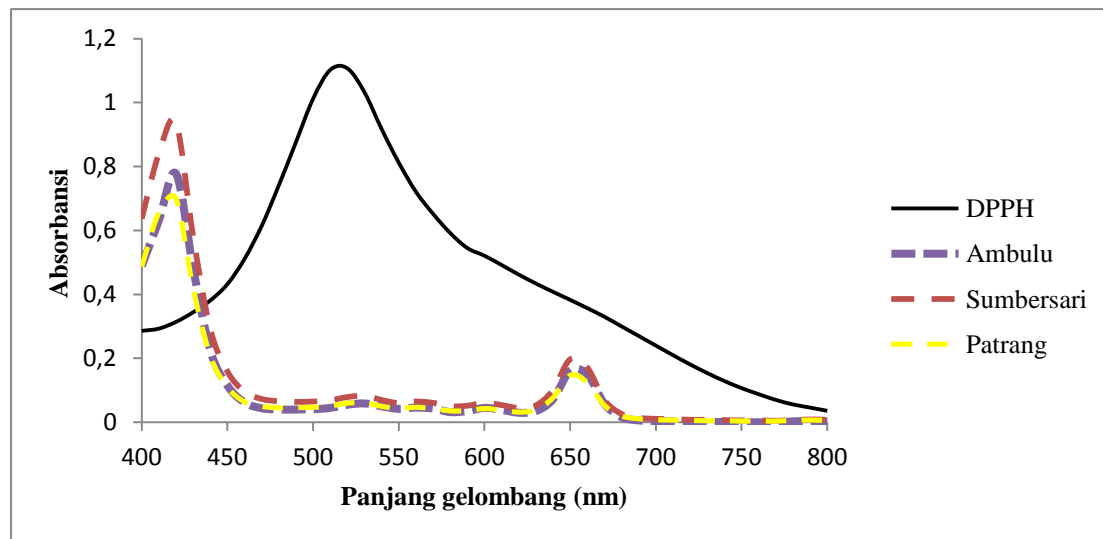
$$SD = \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + (c-x)^2}{N-1}}$$

Contoh:

$$SD = \sqrt{\frac{(0,6648 - 0,6723)^2 + (0,678 - 0,6723)^2 + (0,6763 - 0,6723)^2}{2}}$$

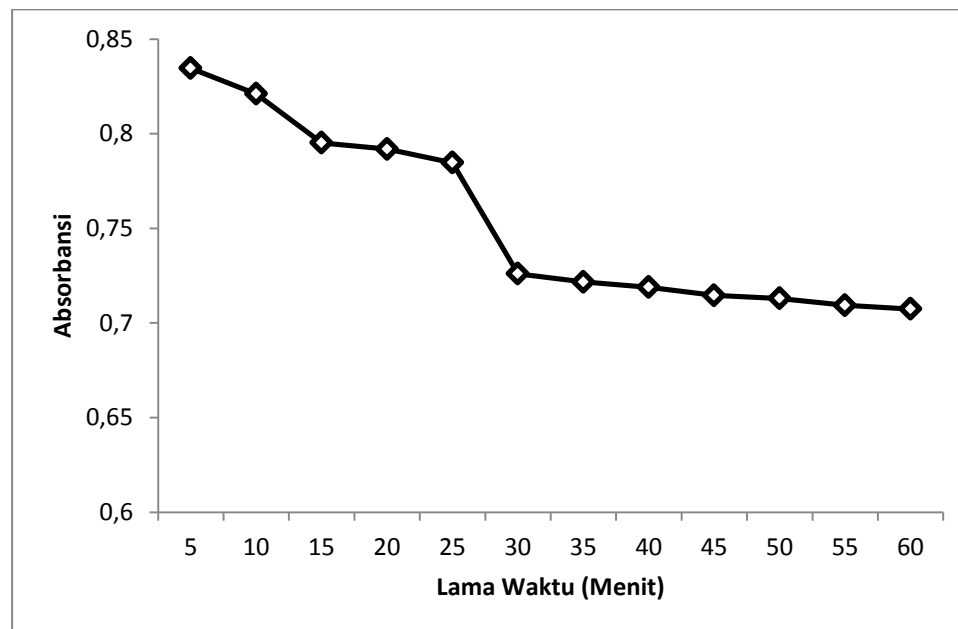
$$SD = \sqrt{\frac{(0,0000563) + (0,0000325) + (0,000016)}{2}}$$

$$= 0,0072$$

**LAMPIRAN E. PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM DPPH**

**LAMPIRAN F. PENENTUAN OPERATING TIME**

Waktu (menit)	Absorbansi rata-rata
5	0,8346
10	0,821
15	0,7952
20	0,7919
25	0,7847
30	0,726
35	0,7217
40	0,7189
45	0,7146
50	0,713
55	0,7093
60	0,7074





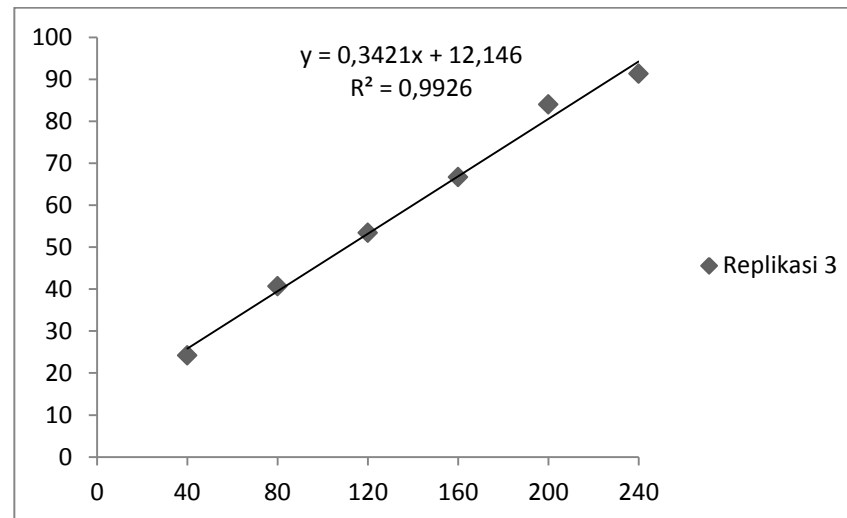
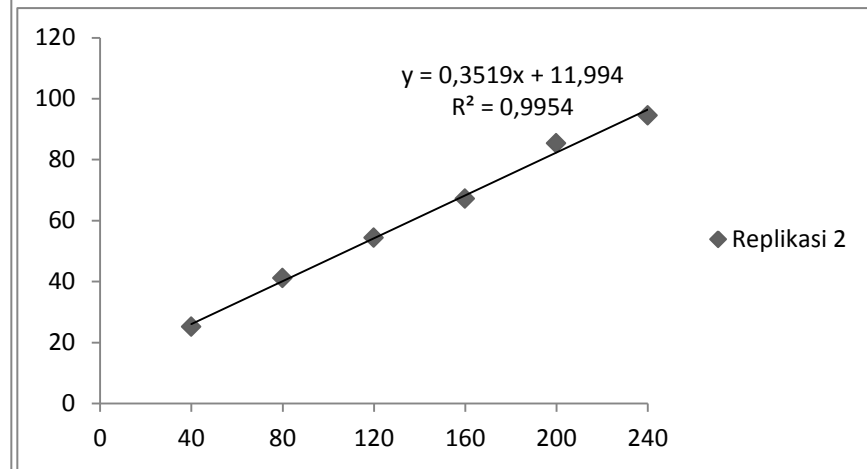
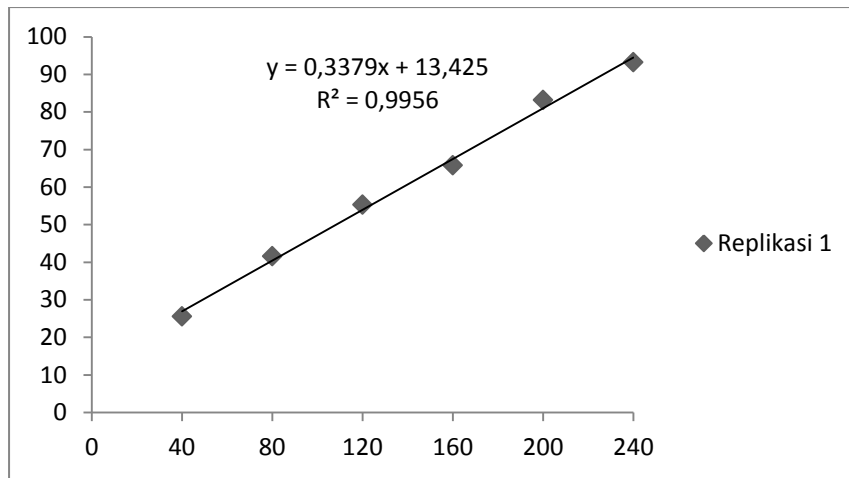
## LAMPIRAN G. DATA ABSORBANSI HITUNG DAN PERSEN PEREDAMAN DPPH

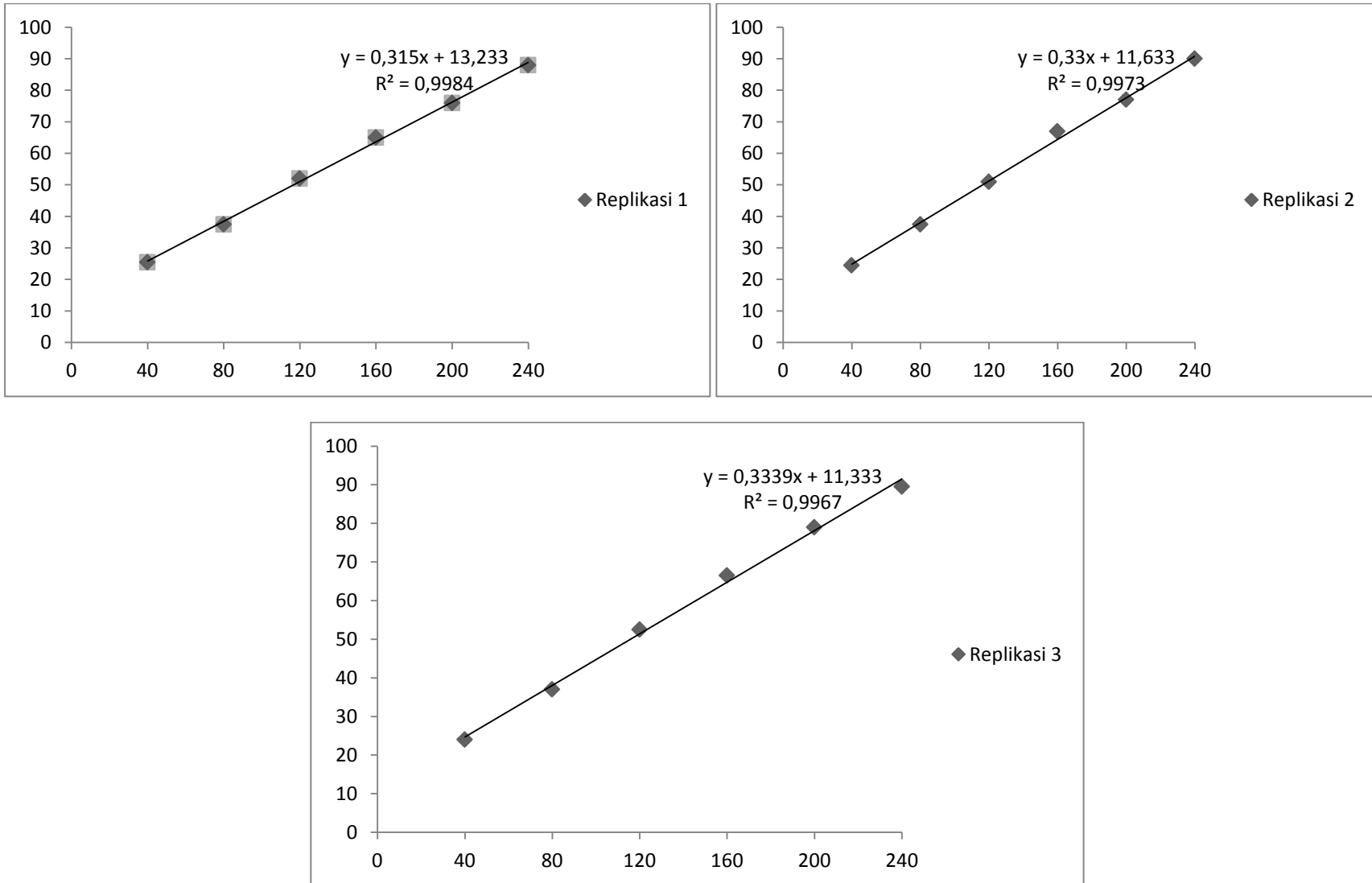
### G.1 TABEL ABSORBANSI HITUNG

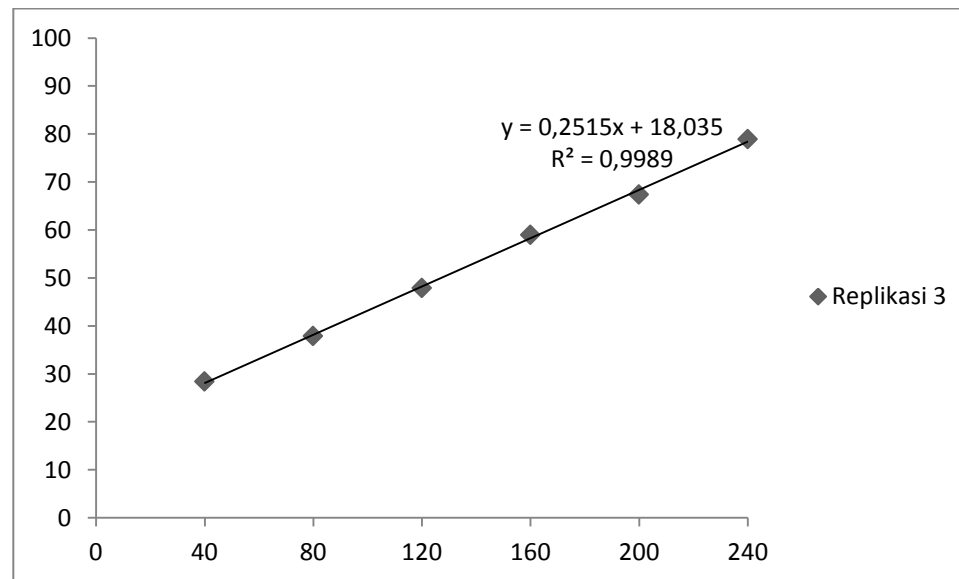
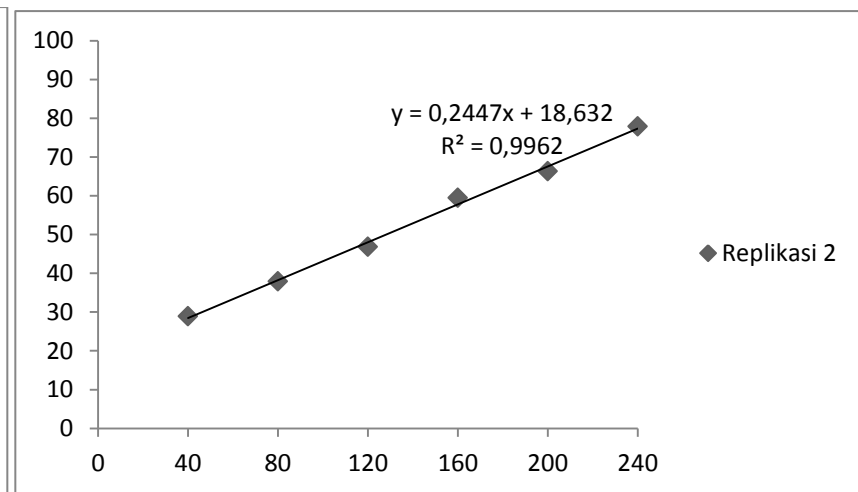
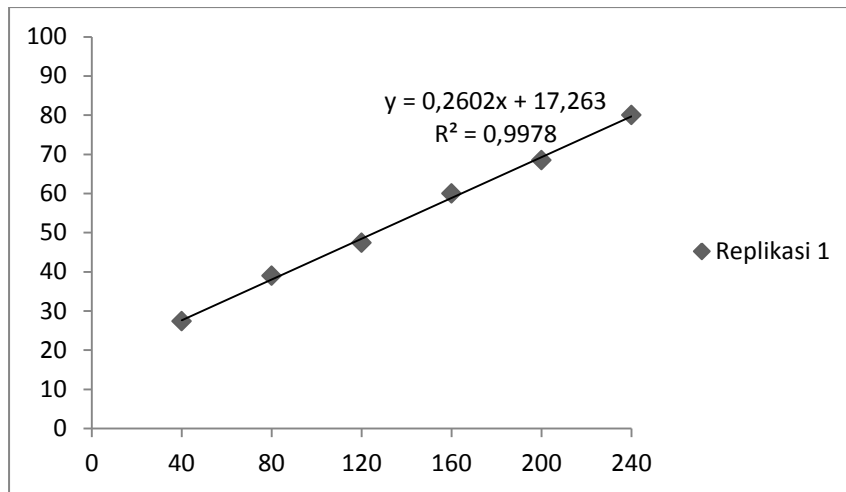
Konsentrasi (ppm)	Rep	Ambulu				Sumbersari				Patrang			
		495 nm	515 nm	535 nm	Ahit	495 nm	515 nm	535 nm	Ahit	495 nm	515 nm	535 nm	Ahit
40	1	0,623	0,735	0,684	0,082	0,581	0,679	0,628	0,075	0,529	0,628	0,589	0,069
	2	0,599	0,710	0,657	0,082	0,597	0,705	0,662	0,076	0,526	0,625	0,589	0,068
	3	0,629	0,740	0,685	0,083	0,579	0,687	0,643	0,076	0,512	0,611	0,574	0,068
80	1	0,497	0,575	0,525	0,064	0,508	0,594	0,555	0,063	0,487	0,572	0,541	0,058
	2	0,509	0,595	0,552	0,065	0,517	0,605	0,568	0,063	0,469	0,553	0,519	0,059
	3	0,530	0,618	0,576	0,065	0,500	0,586	0,546	0,063	0,464	0,548	0,514	0,059
120	1	0,415	0,472	0,431	0,049	0,445	0,509	0,477	0,048	0,436	0,508	0,480	0,050
	2	0,427	0,490	0,453	0,050	0,453	0,519	0,487	0,049	0,435	0,506	0,476	0,051
	3	0,450	0,513	0,474	0,051	0,405	0,465	0,43	0,048	0,404	0,473	0,443	0,050
160	1	0,330	0,371	0,337	0,038	0,458	0,507	0,486	0,035	0,353	0,403	0,377	0,038
	2	0,322	0,361	0,328	0,036	0,384	0,428	0,406	0,033	0,376	0,430	0,407	0,039
	3	0,369	0,412	0,382	0,037	0,327	0,364	0,334	0,034	0,330	0,380	0,352	0,039
200	1	0,264	0,278	0,255	0,019	0,288	0,309	0,282	0,024	0,307	0,345	0,323	0,030
	2	0,219	0,225	0,199	0,016	0,307	0,329	0,305	0,023	0,355	0,399	0,379	0,032
	3	0,291	0,309	0,292	0,018	0,258	0,273	0,246	0,021	0,278	0,314	0,288	0,031
240	1	0,203	0,197	0,176	0,008	0,227	0,231	0,211	0,012	0,279	0,303	0,289	0,019
	2	0,188	0,183	0,166	0,006	0,246	0,250	0,234	0,010	0,262	0,285	0,266	0,021
	3	0,246	0,249	0,233	0,010	0,204	0,202	0,179	0,011	0,200	0,218	0,196	0,020

## G.2 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRSAK DARI TIGA LOKASI BERBEDA

Konsentrasi	Replikasi	Persen peredaman DPPH			Persen peredaman rata-rata $\pm$ SD		
		Patrang	Sumbersari	Ambulu	Patrang	Sumbersari	Ambulu
40	1	27,368	25,500	25,571			
	2	28,947	24,500	25,114	$28,246 \pm 0,804$	$24,667 \pm 0,764$	$24,962 \pm 0,698$
	3	28,421	24,000	24,201			
80	1	38,947	37,500	41,553			
	2	37,895	37,500	41,096	$38,246 \pm 0,608$	$37,333 \pm 0,289$	$41,096 \pm 0,457$
	3	37,895	37,000	40,639			
120	1	47,368	52,000	55,251			
	2	46,842	51,000	54,338	$47,368 \pm 0,526$	$51,833 \pm 0,764$	$54,338 \pm 0,913$
	3	47,895	52,500	53,425			
160	1	60,000	65,000	65,753			
	2	59,474	67,000	67,123	$59,474 \pm 0,526$	$66,167 \pm 1,041$	$66,514 \pm 0,698$
	3	58,947	66,500	66,667			
200	1	68,421	76,000	83,105			
	2	66,316	77,000	85,388	$67,368 \pm 1,053$	$77,333 \pm 1,528$	$84,170 \pm 1,149$
	3	67,368	79,000	84,018			
240	1	80,000	88,000	93,151			
	2	77,895	90,000	94,521	$78,947 \pm 1,053$	$89,167 \pm 1,041$	$92,998 \pm 1,604$
	3	78,947	89,500	91,324			

G.3 KONSENTRASI EKSTRAK DAUN SIRSAK AMBULU ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) TERHADAP PEREDAMAN DPPH (%)

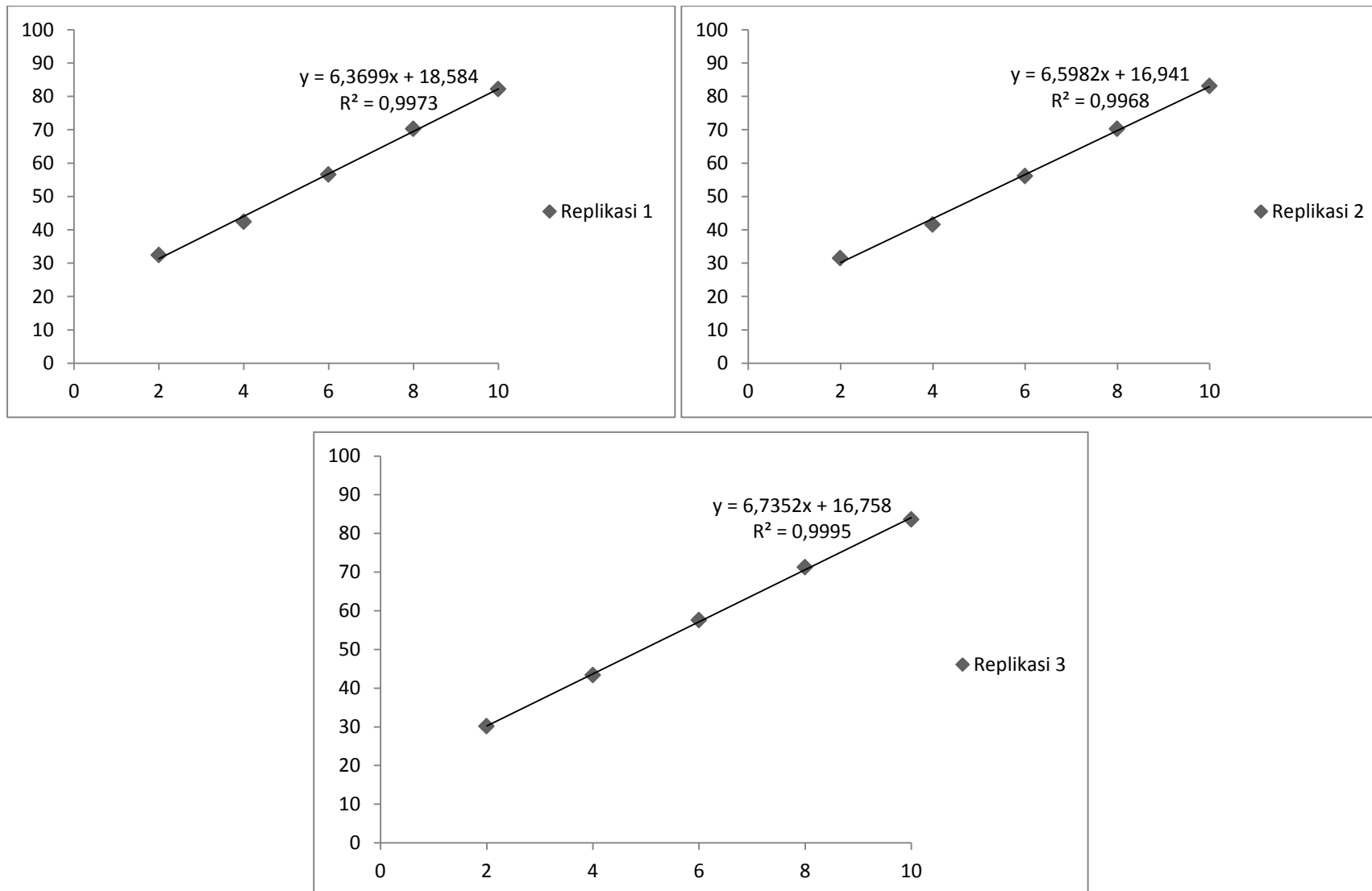
G.4 KONSENTRASI EKSTRAK DAUN SIRSAK SUMBERSARI ( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ ) TERHADAP PEREDAMAN DPPH (%)

G.5 KONSENTRASI EKSTRAK DAUN SIRSAK PATRANG ( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ ) TERHADAP PEREDAMAN DPPH (%)

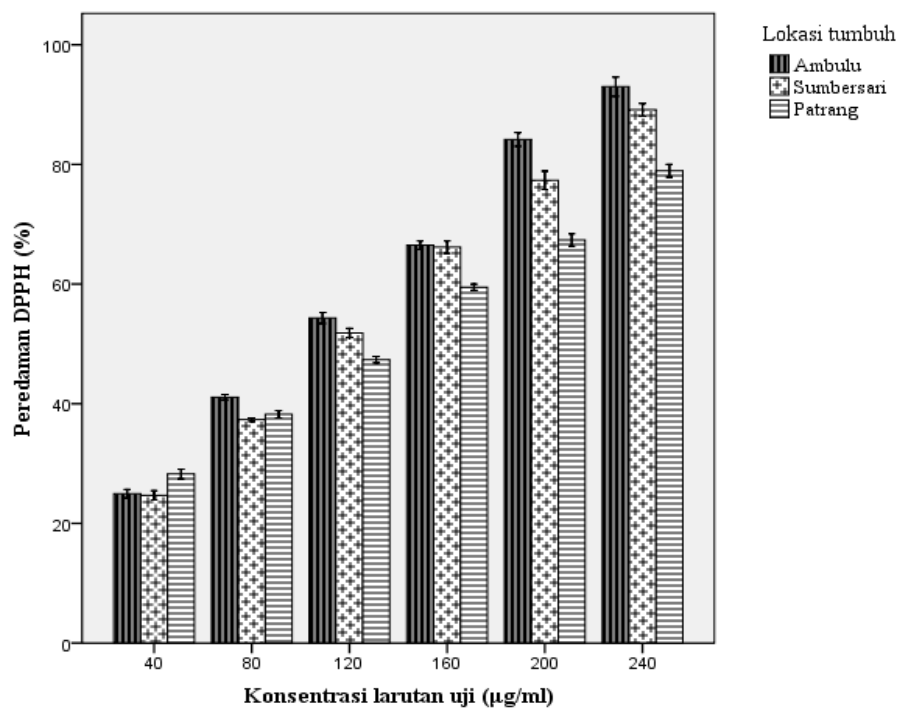
## G.6 KONSENTRASI ASAM GALAT TERHADAP PEREDAMAN DPPH (%)

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Panjang Gelombang (nm)			Absorbansi Hitung	Persentase inhibisi	Persentase inhibisi rata2 ± SD
		495	515	535			
2	1	0,565	0,67	0,627	0,074	32,420	31,355 ± 1,149
	2	0,591	0,698	0,655	0,075	31,507	
	3	0,579	0,686	0,64	0,077	30,137	
4	1	0,488	0,575	0,536	0,063	42,466	42,466 ± 0,646
	2	0,498	0,588	0,550	0,064	41,553	
	3	0,490	0,577	0,540	0,062	43,379	
6	1	0,430	0,493	0,461	0,048	56,621	56,773 ± 0,698
	2	0,405	0,467	0,433	0,048	56,164	
	3	0,406	0,467	0,435	0,047	57,534	
8	1	0,299	0,332	0,300	0,033	70,320	70,624 ± 0,527
	2	0,705	0,725	0,680	0,033	70,320	
	3	0,327	0,366	0,342	0,032	71,233	
10	1	0,213	0,228	0,204	0,020	82,192	82,953 ± 0,698
	2	0,250	0,267	0,247	0,019	83,105	
	3	0,249	0,267	0,249	0,018	83,562	

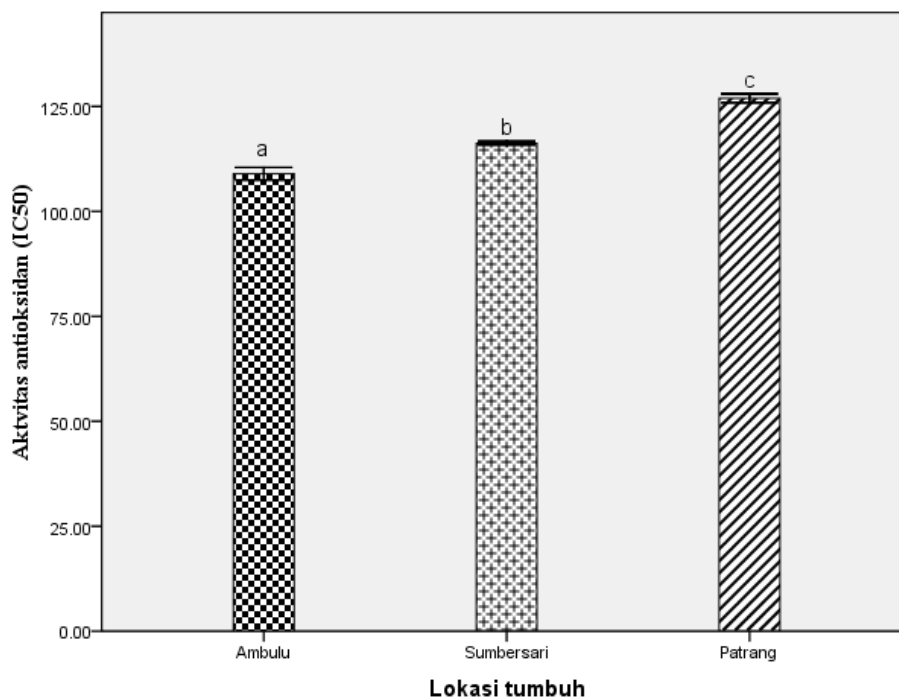
## G.7 KONSENTRASI ASAM GALAT TERHADAP PEREDAMAN DPPH (%)



## G.8 PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SIRSAK 3 LOKASI



Peredaman DPPH (%) masing-masing lokasi tumbuh dengan berbagai konsentrasi

 $\text{IC}_{50}$  masing-masing lokasi tumbuh

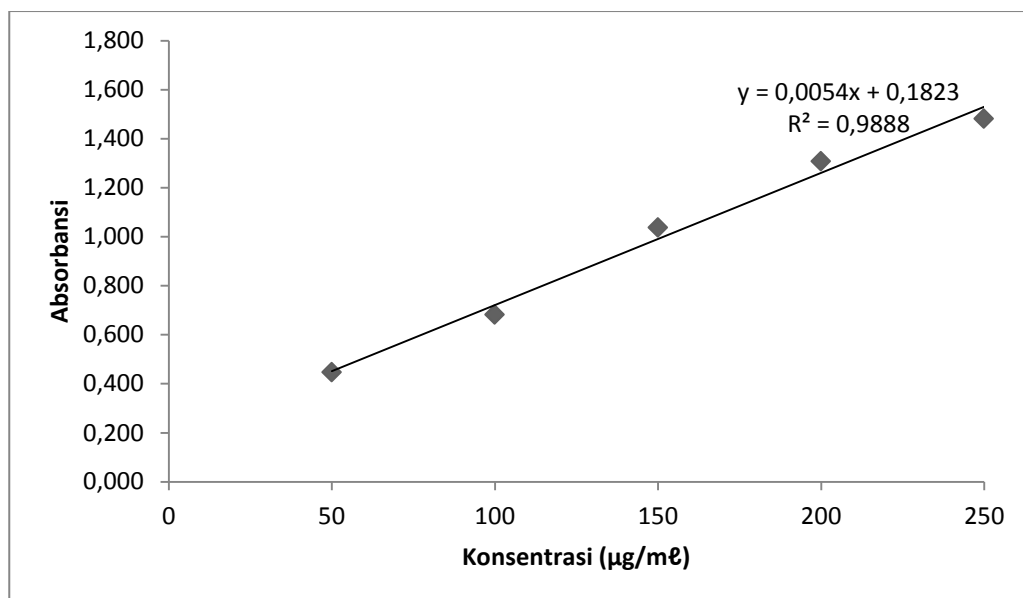


## LAMPIRAN H. KADAR POLIFENOL TOTAL EKSTRAK DAUN SIRSAK

### H.1 KURVA KALIBRASI ASAM GALAT

	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi rata-rata
	50	1	0,453	0,447
		2	0,475	
		3	0,412	
	100	1	0,693	0,682
		2	0,683	
		3	0,671	
	150	1	0,943	1,037
		2	1,127	
		3	1,041	
	200	1	1,204	1,308
		2	1,306	
		3	1,414	
	250	1	1,484	1,482
		2	1,48	
		3	1,482	
Ambulu	1000,4	1	0,850	0,858
	1000	2	0,866	
	1000	3	0,859	
Sumbersari	1000	1	0,725	0,729
	1000	2	0,737	
	1000,4	3	0,726	
Patrang	1000	1	0,723	0,715
	1000	2	0,705	
	1000	3	0,718	

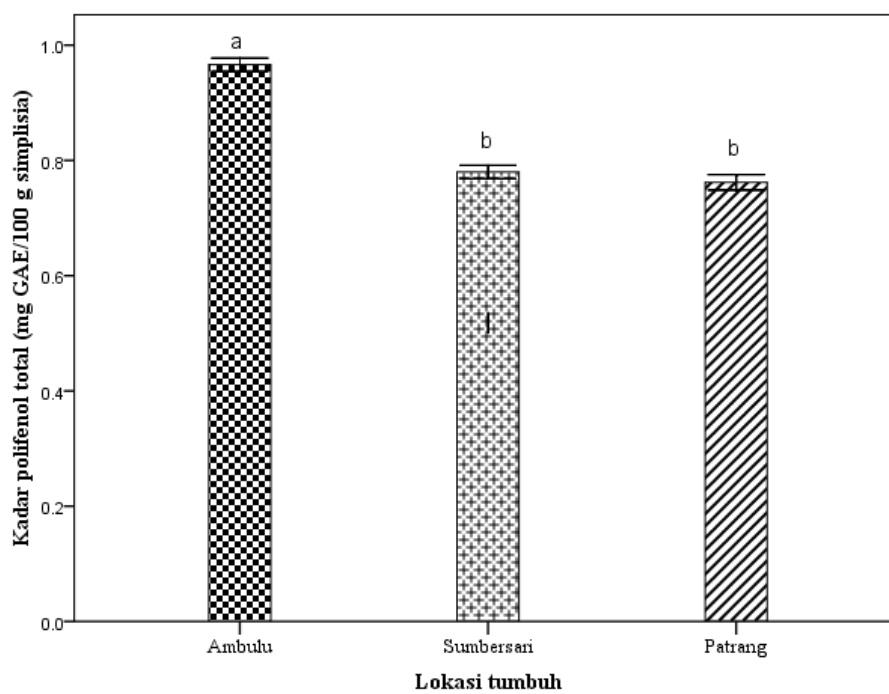
Konsentrasi (ppm)	Abs rata-rata
50	0,447
100	0,682
150	1,037
200	1,308
250	1,482
Ambulu	0,858
Sumbersari	0,729
Patrang	0,715



Kurva kalibrasi asam galat

## H.2 KADAR POLIFENOL TOTAL SAMPEL

Sampel	n	Kadar polifenol total rata-rata (mg GAE/100 g simplisia) $\pm$ SD
Ambulu	3	0,966 $\pm$ 0,0114
Sumbersari	3	0,781 $\pm$ 0,0095
Patrang	3	0,761 $\pm$ 0,0133



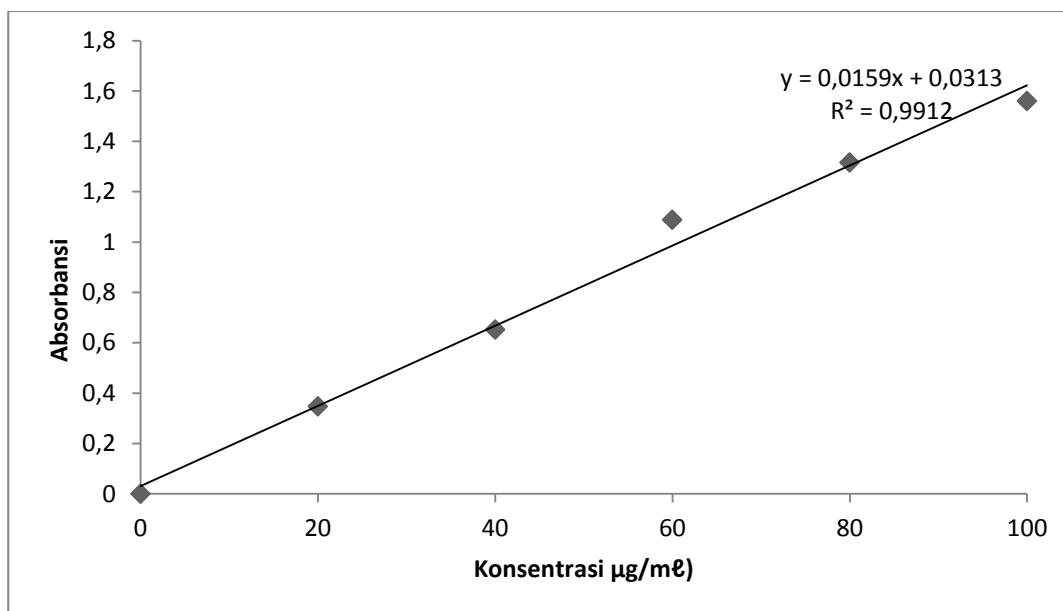
Kadar polifenol total masing-masing lokasi tumbuh (n=3)

## LAMPIRAN I. KADAR FLAVONOID TOTAL

### I.1 KALIBRASI STANDAR KUERSETIN

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi rata-rata
20	0,343	0,346
	0,336	
	0,360	
40	0,583	0,652
	0,719	
	0,655	
60	0,973	1,088
	1,171	
	1,121	
80	1,268	1,315
	1,390	
	1,287	
100	1,500	1,559
	1,564	
	1,614	

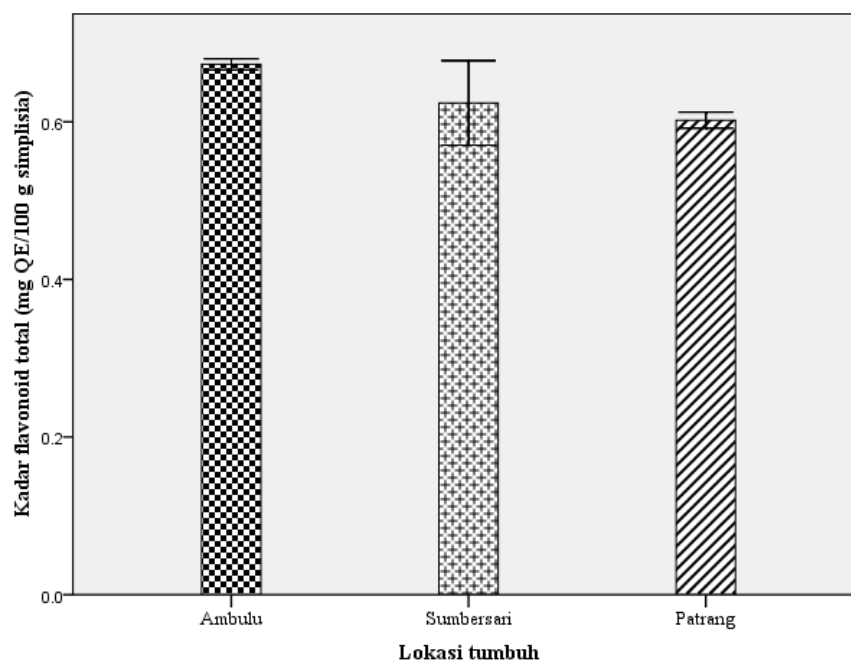
Konsentrasi (ppm)	Abs rata-rata
0	0
20	0,346
40	0,652
60	1,088
80	1,315
100	1,559



Kurva kalibrasi kuersetin

## I.2 KADAR FLAVONOID TOTAL SAMPEL

Sampel	n	Kadar flavonoid total rata-rata (mg QE/100 g simplisia) $\pm$ SD
Ambulu	3	0,672 $\pm$ 0,0072
Sumbersari	3	0,625 $\pm$ 0,0540
Patrang	3	0,604 $\pm$ 0,0107



Kadar flavonoid total masing-masing lokasi tumbuh (n=3)

## LAMPIRAN J. ANALISIS DATA

### J.1 ANALISIS DATA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Bahan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Ambulu	.357	3	.	.816	3	.153
Sumbersari	.177	3	.	1.000	3	.965
Patrang	.198	3	.	.995	3	.871

a. Lilliefors Significance Correction

Hipotesis ;  $H_0$  = data berasal dari populasi yang terdistribusi normal

$H_1$  = data berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil:

Semua peredaman sampel dari tiga lokasi, uji Shapiro-Wilk mempunyai nilai P lebih besar dari 0,05 sehingga  $H_0$  : data berasal dari populasi yang terdistribusi normal tidak dapat ditolak.

#### Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.362	2	6	.175

Hipotesis ;  $H_0$  = *variance* diasumsikan sama

$H_1$  = *variance* diasumsikan tidak sama

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil: didapat hasil nilai  $P = 0,596$  yang lebih besar dari 0,05.

Kesimpulan ;  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

**ANOVA**

IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	490.655	2	245.328	203.560	.000
Within Groups	7.231	6	1.205		
Total	497.886	8			

Dari tabel di atas, SPSS memberi nilai P 0,000. Karena nilai P lebih kecil dari 0,05 maka  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$  ditolak.

Kesimpulan: Sampel dari tiga lokasi mempunyai IC<sub>50</sub> yang berbeda.

#### Multiple Comparisons

IC50

Tukey HSD

(I) Bahan	(J) Bahan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ambulu	Sumbersari	-7.29667*	.89636	.000	-10.0469	-4.5464
	Patrang	-17.98000*	.89636	.000	-20.7303	-15.2297
Sumbersari	Ambulu	7.29667*	.89636	.000	4.5464	10.0469
	Patrang	-10.68333*	.89636	.000	-13.4336	-7.9331
Patrang	Ambulu	17.98000*	.89636	.000	15.2297	20.7303
	Sumbersari	10.68333*	.89636	.000	7.9331	13.4336

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

Dari tabel di atas, diperoleh perbedaan rata-rata yang signifikan antara IC<sub>50</sub> sampel Ambulu, Sumbersari, dan Patrang dengan nilai P 0,000.

## J.2 ANALISIS DATA KADAR POLIFENOL TOTAL

#### Tests of Normality

Lokasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
TPC	Ambulu	.201	3	.	.994	3	.856
	Sumbersari	.302	3	.	.910	3	.417
	Patrang	.284	3	.	.934	3	.503

a. Lilliefors Significance Correction

Hipotesis ;  $H_0$  = data berasal dari populasi yang terdistribusi normal

$H_1$  = data berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil:

Semua TPC dari tiga lokasi, untuk uji Shapiro-Wilk mempunyai nilai P lebih besar dari 0,05 sehingga

$H_0$  : data berasal dari populasi yang terdistribusi normal tidak dapat ditolak.

#### Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.106	2	6	.901

Hipotesis ;  $H_0$  = *variance* diasumsikan sama

$H_1$  = *variance* diasumsikan tidak sama

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil: didapat hasil nilai  $P = 0,901$  yang lebih besar dari 0,05

Kesimpulan ;  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

#### ANOVA

TPC	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.077	2	.038	256.832	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.077	8			

Dari tabel di atas, SPSS memberi nilai P 0,000. Karena nilai P lebih kecil dari 0,05 maka  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$  ditolak.

Kesimpulan: Sampel dari tiga lokasi mempunyai kadar polifenol total yang berbeda.

### Multiple Comparisons

TPC

Tukey HSD

(I) Bahan	(J) Bahan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ambulu	Sumbersari	.186000 <sup>*</sup>	.009967	.000	.15542	.21658
	Patrang	.204000 <sup>*</sup>	.009967	.000	.17342	.23458
Sumbersari	Ambulu	-.186000 <sup>*</sup>	.009967	.000	-.21658	-.15542
	Patrang	.018000	.009967	.246	-.01258	.04858
Patrang	Ambulu	-.204000 <sup>*</sup>	.009967	.000	-.23458	-.17342
	Sumbersari	-.018000	.009967	.246	-.04858	.01258

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

Dari tabel di atas, diperoleh perbedaan rata-rata yang signifikan antara kadar polifenol total sampel Ambulu-Sumbersari dan kadar polifenol total sampel Ambulu-Patrang dengan nilai P 0,000 dan perbedaan rata-rata yang tidak signifikan antara kadar polifenol total Sumbersari dan Patrang dengan nilai P 0,246.

### J.3 ANALISIS DATA KADAR FLAVONOID TOTAL

#### Tests of Normality

Bahan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TFC Ambulu	.333	3	.	.862	3	.274
Sumbersari	.241	3	.	.974	3	.691
Patrang	.245	3	.	.971	3	.672

a. Lilliefors Significance Correction

Hipotesis ;  $H_0$  = tidak ada perbedaan yang nyata dan signifikan

Hipotesis ;  $H_0$  = data berasal dari populasi yang terdistribusi normal

$H_1$  = data berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

Jika  $\text{sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $\text{sig} < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil:



Semua TFC dari tiga lokasi, untuk uji Shapiro-Wilk mempunyai nilai P lebih besar dari 0,05 sehingga  $H_0$  : data berasal dari populasi yang terdistribusi normal tidak dapat ditolak.

#### Test of Homogeneity of Variances

TFC			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.695	2	6	.059

Hipotesis ;  $H_0 = variance$  diasumsikan sama

$H_1 = variance$  diasumsikan tidak sama

Jika  $sig > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

Jika  $sig < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.

Interpretasi hasil: didapat hasil nilai  $P = 0,059$  yang lebih besar dari 0,05

Kesimpulan ;  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

ANOVA					
TFC					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.008	2	.004	3.916	.082
Within Groups	.006	6	.001		
Total	.014	8			

Dari tabel di atas, SPSS memberi nilai P 0,082. Karena nilai P lebih besar dari 0,05 maka  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$  diterima.

Kesimpulan: Sampel dari tiga lokasi mempunyai kadar flavonoid total yang sama.