



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN
BENALU KELOR (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)**

SKRIPSI

Oleh:

Aini Zuhriyah

NIM 132210101048

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN
BENALU KELOR (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)**

SKRIPSI

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

Oleh:

Aini Zuhriyah

NIM 132210101048

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Bakir Cholil dan Ibu Malikil Chusna tercinta.
2. Kakak-kakakku tersayang Ninik Fadhillah, Hanum Mufarrokhah, Ihsan Mawardi dan Akhmad Maulana.
3. Guru-guru sejak SD hingga SMA, dosen, dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember terhormat.
4. Teman-teman Farmasi Unej 2013 dan almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember
5. Saudara dan Saudariku di Lembaga Dakwah Kampus Unej.

MOTTO

“Tiada balasan bagi kebaikan kecuali kebaikan pula.”

(QS. Ar rahman : 60)

“Tiada apapun kebaikan maupun ujian terjadi melainkan telah diizinkan oleh Allah SWT.”



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aini Zuhriyah

NIM : 132210101048

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 25 Juli 2017

Yang menyatakan,

Aini Zuhriyah



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR
FENOL TOTAL FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN
BENALU KELOR (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)**

Oleh:

Aini Zuhriyah

NIM 132210101048

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis, 27 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm

NIP. 198204062006042001

NIP. 197604142002122001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt

NIP. 196902011994031002

NIP. 197503092001121001

Mengesahkan

Dekan,

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

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.); Aini Zuhriyah, 132210101048; 2017; 82 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Radikal bebas merupakan senyawa yang terbentuk secara alami di dalam tubuh dari hasil samping proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas bersifat tidak stabil sehingga akan bereaksi dengan molekul disekitarnya. Reaksi ini, bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel serta berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan lain-lain. Oleh karena itu, tubuh memerlukan substansi penting yakni antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga senyawa radikal menjadi stabil. Sementara itu, hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa penggunaan antioksidan sintetis dapat meningkatkan resiko penyakit karsinogenesis sehingga berbagai penelitian untuk mencari sumber antioksidan alami yang potensial banyak dilakukan.

Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fenolik tinggi dan bisa menjadi sumber antioksidan alami yakni benalu kelor (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq). Kandungan senyawa metabolit sekunder pada setiap jenis benalu berbeda-beda tergantung dari inangnya. Kandungan senyawa kimia benalu yang tumbuh pada inang kelor dipengaruhi senyawa kimia yang terdapat pada pohon kelor sebagai inangnya. Penelitian sebelumnya terhadap ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dalam proses *in vivo* dan *in vitro*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman benalu pada spesies yang sama (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) yang tumbuh pada inang berbeda seperti lobi-lobi, cengkeh, teh, kedondong, srikaya memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dan penentuan kadar fenol total pada berbagai fraksi ekstrak etanol daun benalu *Dendrothoe pentandra* (L.) Miq. yang tumbuh pada pohon kelor sebagai inangnya. Penelitian ini dilakukan sampai ke tahap fraksinasi untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan fenol total yang lebih efektif. Metode DPPH dipilih sebagai metode dalam uji aktivitas antioksidan dengan vitamin C sebagai standar sedangkan penetapan kadar fenol total menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar.

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi-fraksi ekstrak etanol daun benalu kelor memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan yang paling tinggi dimiliki oleh fraksi etil asetat dengan IC_{50} yaitu $7,077 \pm 0,390 \mu\text{g/mL}$, kemudian fraksi n-heksana dengan IC_{50} yaitu $10,898 \pm 1,047 \mu\text{g/mL}$ dan yang paling rendah adalah fraksi air dengan IC_{50} yaitu $29,461 \pm 0,988 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan hasil uji penetapan kadar fenol total yakni Kadar fenol total tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat dengan $67,4 \pm 0,82 \text{ mg GAE/g}$ fraksi. Kemudian diikuti oleh fraksi n-heksana ($21,35 \pm 1,86 \text{ mg GAE/g}$ fraksi) dan fraksi air ($9,42 \pm 1,16 \text{ mg GAE/g}$ fraksi).

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji hanya bagi Allah Subhanallahu Wa Ta'ala atas segala kasih sayang-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan program sarjana farmasi (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Bapak Bakir Cholil dan Ibu Malikil Chusnah yang telah memberikan segalanya demi kesuksesan penulis.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Nia Kristiningrum S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan motivasi, meluangkan waktu, pikiran, perhatian, dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji II terima kasih atas kritik dan sarannya.
5. Bapak Bawon Triatmoko Apt., M.Sc., S.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan nasihat selama penulis menempuh perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
6. Kakak-kakaku tersayang Ninik Fadhilah, Hanum Mufarrokhah, Ihsan Mawardi dan Akhmad Maulana yang selalu mendampingi dan tiada pamrih membantu secara moriil dan materiil.

7. Teman seperjuangan saudara dan saudariku di Lembaga Dakwah Kampus Unej dan Takmir Masjid Kampus Al Hikmah, *jazakumullahu khair* telah menjadi pelecut diri untuk *berfastabiqul khairat*.
8. Partner skripsi super Nur Laily Khomsiyah dan M. Ridlo yang saling melengkapi dalam menyusuri liku-liku perjuangan skripsi.
9. Sahabat “Biokimia” Niken, Lisa, Chita, Dita dan Nia, kita bertemu di jalur sukses ya.
10. Teman-teman “Chem Squad” (Fiki, Mbak di, irun, Disya, Riski Putri, Elsa, Reno, Carin, Mbak Siti, Wahyu) di Kimia Farmasi.
11. Seluruh teman-temanku di FARMASETAMOL yang sangat unik.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan penulis satu per satu.

Hanya do’a yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan dan dukungan yang diberikan penulis mendapat balasan dari Allah Subhanallahu Wa Ta’ala. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu farmasi.

Jember, 25 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan tentang <i>Dendrophoe pentandra</i> (L.) Miq	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Deskripsi	6
2.1.3 Kandungan dan Khasiat	7
2.2 Tinjauan Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	8
2.2.1 Klasifikasi	8
2.2.2 Deskripsi	8
2.2.3 Kandungan dan Khasiat	9
2.3 Tinjauan Radikal Bebas	10
2.4 Tinjauan Antioksidan	11

2.5	Tinjauan Senyawa Fenol.....	12
2.6	Metode Penetapan Kadar Fenol Total	14
2.7	Metode Pengujian Antioksidan	15
2.7.1	DPPH	15
2.7.2	Metode Tiosianat.....	16
2.7.3	Metode Uji Kapasitas Serapan Radikal Oksigen (ORAC)	17
2.7.4	Metode <i>Ferric antioxidant Reducing Power</i> (FRAP).....	17
2.8	Tinjauan Umum Vitamin C.....	17
2.9	Fraksinasi	19
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	21
3.1	Jenis Penelitian	21
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3	Sampel	21
3.4	Rancangan Penelitian.....	21
3.4.1	Rancangan Percobaan	21
3.4.2	Alur Penelitian	22
3.4.3	Alat.....	23
3.4.4	Bahan.....	23
3.5	Definisi Operasional	23
3.6	Variabel Penelitian	24
3.6.1	Variabel Bebas	24
3.6.2	Variabel Terikat	24
3.6.3	Variabel Terkendali.....	24
3.7	Prosedur Penelitian	24
3.7.1	Determinasi Tanaman Benalu Kelor	24
3.7.2	Pembuatan Simplisia.....	24
3.7.3	Ekstraksi Remaserasi	25
3.7.4	Fraksinasi	25
3.7.5	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH.....	25
3.7.6	Penetapan Kadar Fenol Total	27
3.8	Analisis Data	29

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Determinasi Tanaman	30
4.2 Ekstraksi Tanaman	30
4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan	34
4.3.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	34
4.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan	34
4.4 Penetapan Kadar Fenol Total	38
4.4.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	38
4.4.2 Penetapan Kadar Fenol Total	38
4.5 Uji Korelasi	40
BAB 5. PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Dendrophthoe</i> sp, a. buah, b. bunga, c. daun	7
Gambar 2.2 Tahap reaksi pembentukan radikal bebas.....	11
Gambar 2.3 Struktur dasar fenol	13
Gambar 2.4 Reaksi Radikal DPPH dengan antioksidan	16
Gambar 2.5 Struktur Vitamin C	18
Gambar 2.6 Proses fraksinasi dengan corong pisah.....	20
Gambar 4.1 Spektra panjang gelombang maksimum DPPH terpilih (515 nm)....	34
Gambar 4.2 Hasil pengujian aktivitas antioksidan.....	35
Gambar 4.3 Spektra panjang gelombang maksimum asam galat	38
Gambar 4.4 Hasil kadar fenol total masing-masing fraksi	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolik Berdasarkan jumlah atom karbon	13
Tabel 4.1 Hasil ekstraksi dengan pelarut etanol 96%	32
Tabel 4.2 Data rendemen fraksi ekstrak etanol daun benalu kelor	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi	50
Lampiran 4.2 Data Rendemen Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor.....	52
Lampiran 4.3 Rendemen Hasil Fraksinasi	53
Lampiran 4.4 Pembuatan DPPH	54
Lampiran 4.5 Pembuatan Larutan Uji.....	55
Lampiran 4.6 Penentuan Panjang Gelombang DPPH.....	60
Lampiran 4.7 Perhitungan % peredaman DPPH dan IC ₅₀	62
Lampiran 4.8 Gambar Pengujian Kadar Fenol Total	71
Lampiran 4.9 Pembuatan Reagen Folin-Ciocalteu dan Na ₂ CO ₃ 7,5%.....	72
Lampiran 4.10 Pembuatan Standar dan Larutan Uji	73
Lampiran 4.11 Penentuan Panjang Gelombang	75
Lampiran 4.12 Pengukuran Kadar Fenol Total.....	77
Lampiran 4.13 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan.....	80
Lampiran 4.14 Hasil analisis varian (ANOVA) Fenol total	82
Lampiran 4.15 Hasil analisis korelasi pearson.....	84

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan senyawa yang terbentuk secara alami di dalam tubuh dari hasil samping proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas bersifat tidak stabil sehingga akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron untuk menjadi stabil. Reaksi ini, bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel serta berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan lain-lain. Tubuh memerlukan substansi penting yakni antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga senyawa radikal menjadi stabil (Halliwell & Gutteridge, 2000; Kikuzaki *et al.*, 2002; Sibuea, 2003).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen reaktif dan radikal bebas. Antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya (donor elektron) kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell & Gutteridge, 2000).

Prior *et al.* (2005) menyatakan bahwa di dalam sistem biologis tubuh sudah tersedia antioksidan namun dapat pula diperoleh dari bahan-bahan alami dan sintetis. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Amarowicz *et al.* (2000) menyatakan bahwa penggunaan antioksidan sintetis dapat meningkatkan resiko penyakit karsinogenesis. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan adanya peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah, sayur, bunga, rimpang dan bagian-bagian lain dari tumbuhan terbukti dapat menghindarkan penyakit-penyakit degeneratif (Ghiselli *et al.*, 1998).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan selain berupa vitamin adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuomarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional.

Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, dan kalkon (Prakash, 2001; Kumalaningsih, 2006). Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fenolik tinggi dan bisa menjadi sumber antioksidan alami yakni benalu.

Terdapat berbagai macam spesies benalu di Indonesia (Windari, 1998). Benalu lebih dikenal berdasarkan inang tempat tumbuhnya oleh masyarakat seperti benalu teh, benalu duku, benalu mangga dan lain-lain (Pitoyo, 1996). Benalu merupakan tumbuhan yang bersifat parasit dan termasuk dalam suku Loranthaceae (Barlow, 1967). Tumbuhan parasit ini menempel pada cabang maupun ranting dari pohon inangnya. Selain dikenal sebagai tanaman penggaggu yang sangat merugikan karena dapat merusak inangnya, benalu juga dikenal sebagai obat tradisional. Bagian benalu yang banyak dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian daunnya. Kandungan kimia yang terdapat pada daun benalu antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin yang memiliki aktivitas antioksidan (Artanti *et al.*, 2003; Davehat *et al.*, 2002). Kandungan senyawa metabolit sekunder pada setiap jenis benalu berbeda-beda tergantung dari inangnya. Hal ini dikarenakan perolehan nutrisi dan mineral serta senyawa defensif dari inang tersebut (Adler, 2002). Salah satu benalu yang diduga memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah benalu yang menempel pada pohon kelor.

Kandungan senyawa kimia benalu yang tumbuh pada inang kelor juga dipengaruhi senyawa kimia yang terdapat pada pohon kelor sebagai inangnya. Penelitian sebelumnya terhadap ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dalam proses *in vivo* dan *in vitro* (Chumark *et al.*, 2008), selain itu dalam daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) kaya akan karoten, vitamin, mineral, asam amino, senyawa flavonoid dan fenol (Anwar *et al.*, 2007). Hal ini diduga karena kandungan senyawa kimia kelor berpengaruh pada aktivitas antioksidan benalu yang tumbuh pada pohon kelor.

Beberapa penelitian yang telah mengeksplorasi manfaat benalu kelor diantaranya adalah Multiawati (2013) yang telah membuktikan bahwa ekstrak metanol daun benalu kelor (*Helixanthera sessiflora* (Merr.) Denser.) memiliki

aktivitas sebagai antikanker. Ekstrak etil asetat daun benalu kelor *Helixanthera sessiflora* (Merr.) Denser.) juga menunjukkan adanya aktivitas antiproliferasi terhadap *Cell line* kanker payudara T47D (Sholehuddin, 2013). Aktivitas antikanker erat kaitannya dengan aktivitas antioksidan. Selain itu, efek klinis sebagai antioksidan pada benalu diduga karena adanya senyawa bioaktif lain yang terkandung di dalam benalu berupa asam amino, karbohidrat, flavonoid, dan saponin yang dapat menetralkan pengaruh bahan toksik sehingga mengurangi kerusakan sel (Pitoyo, 1996).

Benalu yang menempel pada pohon kelor tidak hanya satu jenis benalu saja, melainkan dari beberapa jenis benalu. Selain benalu jenis *Helixanthera sessiflora* (Merr.) Denser., benalu spesies lain yang juga ditemukan menempel pada pohon kelor sebagai inang yakni *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq yang berasal dari famili Loranthaceae. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman benalu jenis *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. yang tumbuh pada inang berbeda seperti lobi-lobi, cengkeh, teh, kedondong, srikaya memiliki aktivitas antioksidan (Fajriah *et al.*, 2007; Fitrilia *et al.*, 2015; Artanti *et al.*, 2012; Anita *et al.*, 2014).

Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dan penentuan kadar fenol total pada berbagai fraksi ekstrak etanol daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. yang tumbuh pada pohon kelor sebagai inangnya. Penelitian ini dilakukan sampai ke tahap fraksinasi untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan fenol total yang lebih efektif. Hasilnya diharapkan dapat mempermudah proses isolasi senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan pada benalu kelor dan menambah nilai guna dari tumbuhan benalu kelor.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut maka permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq)?
2. Berapakah kandungan fenol total pada fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq)?
3. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) antara fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq)?
4. Bagaimana korelasi antara kandungan fenol total dengan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50})?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas antioksidan (IC_{50}) fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq).
2. Mengetahui kandungan fenol total pada fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq).
3. Menentukan ada tidaknya perbedaan pada nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) antara fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq).
4. Menentukan bagaimana korelasi antara kandungan fenol total dengan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}).

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi antioksidan daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq).
2. Memberikan informasi tentang perbandingan data ilmiah aktivitas antioksidan dan fenol total antara fraksi air, etil asetat dan n-heksana

ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq) untuk pengembangan penelitian selanjutnya seperti isolasi senyawa dan uji aktivitas antidiabetes.

3. Mengasah kemampuan mahasiswa dalam melakukan penelitian terutama uji aktivitas antioksidan dan fenol total.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman benalu berdasarkan *Global Biodiversity Information Facility* (2016) adalah sebagai berikut :

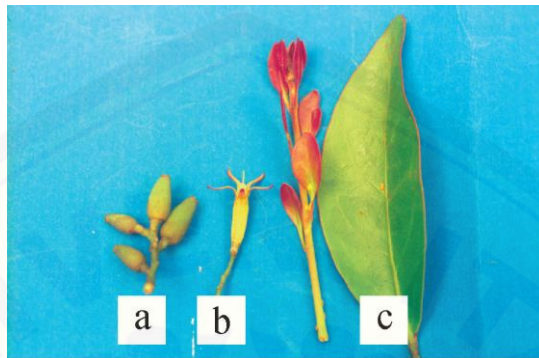
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Santalales
Famili	: Loranthaceae
Genus	: <i>Dendrophthoe</i>
Spesies	: <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L.) Miq

2.1.2 Deskripsi

Benalu merupakan tanaman hemi-parasit yang banyak menempel pada cabang maupun ranting pohon dan perdu. Benalu banyak dikenal sebagai tanaman yang merugikan bagi inangnya namun ternyata benalu juga merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan dalam pengobatan tradisional (Artanti *et al.*, 2012). Ciri khas benalu yakni spesies yang berbeda dapat tumbuh pada inang yang sama, dan juga sebaliknya (Soejono, 1995). Benalu yang menempel pada inang yang berbeda memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang juga berbeda, hal ini dikarenakan adanya interaksi antara benalu dengan inangnya. Haustoria benalu menjalar ke tanaman inang kemudian berpenetrasi ke jaringan, dan mengisap hara, garam mineral, serta air dari tanaman inang. Benalu memiliki hijau daun sehingga dapat membentuk karbohidrat yang digunakan untuk tetap bertahan hidup.

Benalu dari suku *Loranthaceae* memiliki perhiasan bunga diklamid, biseksual dengan buah yang dilapisi oleh lapisan lekat yang terletak diluar pembuluh (Uji & Samiran, 2005). Tanaman ini memiliki ciri-ciri hemiparasit dan

bercabang banyak. Penyebarannya mulai dari India sampai ke Indo-Cina. (Valkenburg, 2003; Uji *et al.*, 2007). Gambar 2.1 menunjukkan penampakan dari *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.



Gambar 2.1 *Dendrophthoe* sp, a. buah, b. bunga, c. daun
(Sumber: Uji *et al.*, 2007)

Spesies *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. memiliki semak yang bercabang yang kuat, kerap kali lebih tinggi dari 1 m. Morfologi daunnya yakni tersebar, bertangkai pendek, bentuk lanset sampai bulat, seringkali memanjang dengan ukuran 5-20 x 2-12 cm serta tebal dan kaku. Sedangkan bunganya berdiri sendiri pada ketiak, atau terkumpul lebih dari satu pada ruas yang tua dengan jumlah 2-20. Warna mahkota bunganya kuning sampai merah orange. Buahnya berbentuk telur memiliki panjang sampai 1 cm dan berwarna kuning orange (Van Steenis *et al.*, 2008).

2.1.3 Kandungan dan Khasiat

Pada penelitian sebelumnya, ekstrak etanolik daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) yang tumbuh pada inang mangga memiliki aktivitas antiradikal bebas (Fajriah *et al.*, 2007). Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) memiliki aktivitas antioksidan yang dipengaruhi oleh tanaman inang yang ditumbuhinya.

Benalu (*Dendrophthoe pentandra*) yang tumbuh di inang kopi telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional anti kanker, anti alergi, anti tumor, obat flu, batuk, diare, luka, rematik, dan penyakit degeneratif lainnya (Hutapea,

1999; Pitojo, 1996; Ishizu *et al.*, 2002). Kandungan kimia yang terdapat pada daun benalu jenis ini antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri serta antioksidan (Artanti *et al.*, 2003; Davehat *et al.*, 2002).

2.2 Tinjauan Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

2.2.1 Klasifikasi

Sistematika tanaman kelor adalah sebagai berikut. (Integrated Taxonomic Information System, 2013) :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lam.

2.2.2 Deskripsi

Kelor merupakan tanaman yang tinggi dapat mencapai 12 meter dengan diameter batang 30 cm; berakar tunggang yang membesar seperti lobak; mempunyai batang bulat dengan arah tumbuh lurus ke atas dan permukaannya kasar. Percabangan pada batangnya terjadi secara simpodial; daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling; helai daun saat muda berwarna hijau muda, setelah dewasa hijau tua, bentuk helai daun bulat telur, panjang 1 sampai 3 cm, lebar 4 mm sampai 1 cm, ujung daun tumpul, pangkal daun membulat, dan tepi daun rata, susunan pertulangan menyirip; bunga berwarna putih agak coklat, menebar aroma khas; buah berbentuk segitiga memanjang berwarna coklat setelah tua; biji berbentuk bulat, ketika muda berwarna hijau terang dan berubah

berwarna coklat kehitaman ketika polong matang dan kering Bagian kayu warna coklat muda atau krem berserabut (Anwar *et al.*, 2007).

Kelor (*Moringa oleifera*) dapat tumbuh baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi hingga ketinggian ± 1000 m di atas permukaan laut. Kelor dapat mencapai ketinggian 1,5 sampai 2 m dan bisa dipanen dalam waktu 3 sampai 6 bulan. Proses pemanenan dilakukan dengan memotong cabangnya pada jarak 20 sampai 40 cm di atas tanah dengan memetik batang daun dari cabang (Kurniasih, 2013). Daun kelor dikonsumsi sebagai sayuran dengan rasa yang khas di Indonesia. Tanaman ini juga dimanfaatkan untuk pakan ternak karena dapat meningkatkan perkembangbiakan ternak khususnya unggas. Selain itu, daun kelor ternyata juga dijadikan sebagai obat tradisional.

2.2.3 Kandungan dan Khasiat

Menurut Simbolan *et al.* (2007), zat yang terkandung di dalam daun kelor diantaranya yakni asam amino berupa histidin, lisin, arginin, venilalanin, triptopan, sistein, asam aspartat, asam glutamat, alanin, valin, leusin, isoleusin, dan metionin. Kandungan makro elemen juga dimiliki daun kelor diantaranya yakni magnesium, sodium, potasium, kalsium, dan fosfor, serta mikro elemen seperti zink, mangan, dan besi. Daun kelor juga merupakan sumber provitamin A, vitamin B, Vitamin C, mineral dan zat besi.

Menurut Fuglie (2001) batang, akar dan kulit batang kelor mengandung saponin dan polifenol. Selain itu kelor juga mengandung alkaloid, tannin, steroid, flavonoid, gula tereduksi dan minyak atsiri. Biji kelor mengandung minyak dan lemak (Utami & Puspaningtyas, 2013).

Hasil studi fitokimia daun kelor (*Moringa oleifera*) menunjukkan bahwa daun kelor mengandung senyawa fenol, flavonoid dan alkaloid yang bahkan juga dapat menghambat aktivitas bakteri. Selama pertumbuhan tanaman, terdapat perubahan komposisi dan konsentrasi senyawa fitokimia. Daun yang lebih muda memiliki kandungan fitokimia paling tinggi (Nugraha, 2013).

2.3 Tinjauan Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Menurut Winarti (2010), radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang sifatnya sangat reaktif dan tidak stabil karena adanya elektron yang tidak berpasangan sehingga cenderung untuk mencari pasangan elektron. Akibatnya, radikal bebas mudah berinteraksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) yang ada di dalam tubuh.

Berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, penyakit respiratorik, katarak, liver dan penuaan mampu diinisiasi oleh kerusakan sel akibat senyawa radikal (Wijaya, 1996). Proses terbentuknya radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses metabolisme sel normal, kekurangan nutrisi, proses peradangan, maupun sebagai respons adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV), polusi lingkungan dan asap rokok (Wijaya, 1996). Menurut Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetis, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan.

Radikal bebas terbentuk melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi, dengan mekanisme kerja sebagai berikut (Gordon, 1990) :

a. Tahap Inisiasi

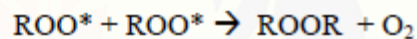
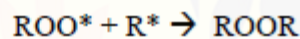
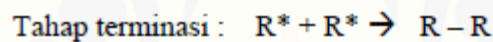
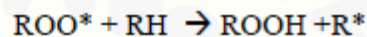
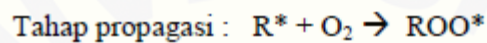
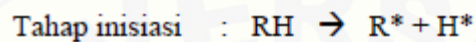
Tahap ini merupakan awal pembentukan radikal bebas R^* yang dihasilkan karena adanya penarikan atom H oleh suatu ROS hidroksil ($\bullet OH$) sehingga terbentuk suatu radikal.

b. Tahap Propagasi

Tahap ini merupakan pemanjangan rantai radikal, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal yang lain. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru.

c. Tahap terminasi

Senyawa radikal bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah. Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Pada tahap ini, akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain. Tahapan pembentukan radikal bebas dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tahap reaksi pembentukan radikal bebas
(Sumber : Nugroho, 2013)

Organel sel yang memproduksi radikal bebas adalah mitokondria, membran plasma, lisosom, peroksisom, retikulum endoplasma dan inti sel (Sayuti & Yehrina, 2015). Radikal bebas tidak dapat menyerang molekul lain jika tubuh memiliki antioksidan yang cukup untuk menetralkan aktivitas radikal bebas.

2.4 Tinjauan Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang dapat mencegah oksidasi sel sehingga meredam aktivitas radikal bebas (Syahrizal, 2008). Antioksidan berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua kelompok yakni antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Isnindar, Wahyuono & Setyowati, 2011).

a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan hasil ekstraksi bahan alami misalnya isoflavon, antosianin, vitamin C, vitamin A dan lain-lain. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri yang termasuk antioksidan alami, akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami akan semakin berkurang, dengan bertambahnya usia. Akhir-akhir ini, penelitian tentang antioksidan alami dalam bahan pangan menjadi *trend*. Hal ini dikarenakan beberapa antioksidan sintesis yang biasa digunakan oleh industri pangan, seperti BHA dan BHT, akhir-akhir ini diduga bersifat *karsinogenik* (penyebab kanker). Sementara itu, pilihan dan ketersediaan terhadap antioksidan alami masih terbatas (Sayuti & Syahrina, 2015).

Menurut Shahidi & Naczk (1995), senyawa antioksidan alami dalam tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik dan polifenolik, seperti golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan meliputi flavon, flavanol, isoflavon, katekin, dan kalkon, sedangkan turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat.

b. Antioksidan Sintetik

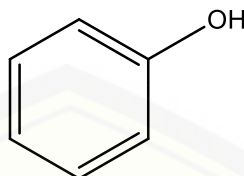
Beberapa antioksidan sintetik yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), hidroksi-toluena terbutilasi (BHT), *tersier butylhydroquinone* (TBHQ), dan ester dari asam galat (Gordon *et al.*, 2001).

Penggunaan antioksidan alami lebih sehat dan lebih aman daripada antioksidan sintesis. Sejak tahun 1980 antioksidan alami telah muncul sebagai alternatif untuk antioksidan sintetik.

2.5 Tinjauan Senyawa Fenol

Fenol (C_6H_6OH) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam

fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan fenol alkohol (Nair *et al.*, 2008). Fenol memiliki rumus struktur sebagaimana pada gambar 2.3 berikut ini



Gambar 2.3 Struktur dasar fenol

Banyaknya jenis gugus yang mungkin tersubstitusi pada kerangka utama fenol menyebabkan senyawa fenol banyak jenisnya. Anggota senyawa fenolik mempunyai berat molekul yang beragam, mulai dari yang berat molekulnya kecil sampai lebih dari 30.000 Da (Marinova *et al.*, 2005). Klasifikasi senyawa fenolik Berdasarkan jumlah atom karbon terdapat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi senyawa fenolik Berdasarkan jumlah atom karbon

Struktur	Kelas
C ₆	Fenolik sederhana
C ₆ -C ₁	Asam fenolat dan senyawa yang berbunga lainnya
C ₆ -C ₂	Asetofenon dan asam fenilasetat
C ₆ -C ₃	Asam sinamat, sinamil aldehyd, sinamil alkohol
C ₆ -C ₃	Koumarin, isokoumarin, kromon
C ₁₅	Kalkon, auron, dihidrokalkon
C ₁₅	Flavan
C ₁₅	Flavon
C ₁₅	Flavanon
C ₁₅	Flavanonol
C ₁₅	Antosianidin
C ₁₅	Antosianin
C ₃₀	Biflavonil
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzofenon, xanton, stilben
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Kuinon
C ₁₈	Betasianin
Lignan, neolignan	Dimer atau oligomer
Lignin	Polimer
Tanin	Oligomer atau polimer
Phlobaphene	Polimer

Sumber : Vermerris dan Nicholson, 2006

Karakteristik antioksidan yang berasal dari bahan pangan dilihat dari kandungan polifenol. Sampai saat ini, minat penelitian terhadap senyawa fenolik meningkat karena kemampuannya menangkal radikal bebas. Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak dalam tanaman pangan, dengan lebih dari 8000 struktur fenolik dikenal saat ini (Harborne, 1987).

Struktur kimia polifenol akan mempengaruhi properti biologinya, seperti bioavailabilitasnya, antioksidan dan interaksi spesifik dengan reseptor sel dan enzim. Telah diketahui sejak lama bahwa senyawa fenolik adalah antioksidan yang efektif. Kemampuan senyawa fenol untuk menghentikan radikal bebas disebabkan oleh keasamannya (kemampuan untuk mendonorkan proton) dan adanya elektron π yang terdelokalisasi (kemampuan untuk mentransfer elektron, namun tetap relatif stabil) yang merupakan karakteristik benzene. Elektron yang terdelokalisasi dan mudah mengalami ionisasi mungkin berperan dalam memberiwarna cerah pada buah dan sayur yang mengandung senyawa fenol. Ada ribuan fitokimia fenolik. Secara garis besar dibagi menjadi dua kelompok, yakni polifenol dan flavonoid (Rahmawati, 2009).

Polifenol merupakan konstituen yang umum terdapat dalam teh, buah-buahan, sayur-sayuran dan kacang. Senyawa ini berfungsi sebagai peredam radikal bebas yang efisien dengan cara mendonorkan atom hidrogen alkoholik atau satu elektronnya yang terdelokalisasi. Flavonoid sebenarnya merupakan kelompok spesifik dari polifenol. Flavonoid merupakan kelompok polifenol yang paling banyak sehingga dikategorikan tersendiri. Flavonoid memproteksi lipid dan komponen vital dari kerusakan oksidatif (Rahmawati, 2009).

2.6 Metode Penetapan Kadar Fenol Total

Metode penetapan kadar fenol total selain metode Folin-Ciocalteu adalah metode Folin-Denis, titrasi permanganat, kolorimetri, absorbansi ultraviolet (Dai & Mumpher, 2010). Metode uji yang sering digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total adalah metode Follin-Cioucalteu. Metode ini umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total karena merupakan

metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai massa ekuivalen asam galat tiap mg sampel (Fu *et al.*, 2011).

Prinsip metode ini adalah reaksi oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi Follin-Ciocalteu yang menghasilkan kompleks berwarna biru yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Blainski *et al.*, 2013).

Asam galat digunakan sebagai pembanding karena telah diketahui sebagai salah satu senyawa fenolik yang terdapat dalam tanaman, selain itu asam galat merupakan standar yang direkomendasikan untuk mendapatkan hasil yang dapat dipercaya karena mempunyai reaktivitas yang cukup tinggi terhadap reagen Follin-Ciocalteu (Prior *et al.*, 2005). Selain itu, asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan harganya cukup terjangkau.

2.7 Metode Pengujian Antioksidan

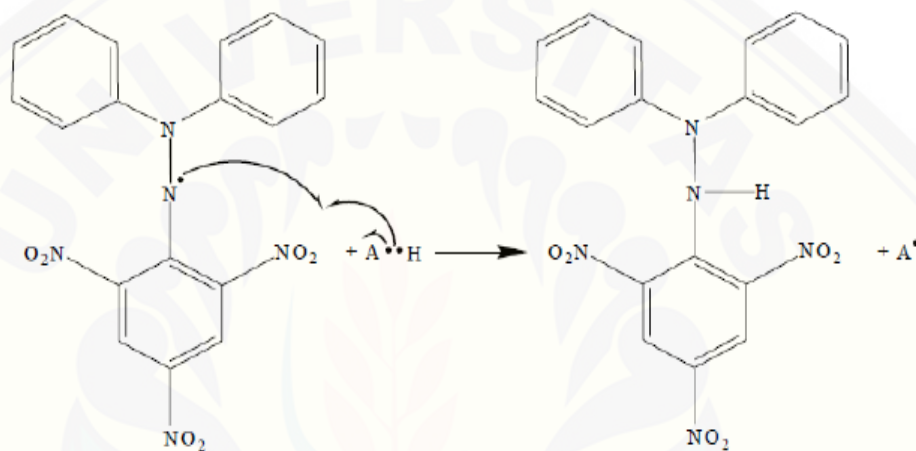
Terdapat beberapa metode untuk menguji aktivitas antioksidan suatu senyawa. Beberapa metode pengujian antioksidan diantaranya :

2.7.1 DPPH

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005).

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm

dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Reaksi Radikal DPPH dengan antioksidan
(Sumber : Windono *et al.*, 2001)

2.7.2 Metode Tiosianat

Metode tiosianat menentukan aktivitas radikal bebas menggunakan senyawa pembanding sebagai kontrol positif. Sebanyak 2 mL sampel dicampur dengan 2,05 mL asam linoleat dan buffer fosfat pH 7,0 diinkubasi di tempat gelap pada suhu 37° C. Jumlah peroksida yang terbentuk ditentukan dari serapan warna merah pada panjang gelombang 500 nm dengan penambahan FeCl₂ dan amonium tiosianat. Pengukuran dilakukan setiap 24 jam hingga dicapai absorbansi maksimum (Saripah *et al.*, 2009; Sharma, 2014).

Metode tiosianat adalah metode dengan prinsip lipid peroksidasi. Metode ini menggunakan asam linoleat, yaitu asam lemak tidak jenuh yang bertindak sebagai radikal bebas (Hanani *et al.*, 2006). Metode ini secara spesifik dapat mengukur jumlah radikal bebas berdasarkan peroksidasi lipid, yaitu pembentukan

radikal alkoksi. Namun, metode ini memerlukan proses pengukuran serapan yang lama. Pengukuran serapan harus terus dilakukan hingga dicapai nilai absorbansi maksimum (Saripah *et al.*, 2009; Sharma, 2014).

2.7.3 Metode Uji Kapasitas Serapan Radikal Oksigen (ORAC)

Metode ORAC menggunakan senyawa radikal peroksil yang dihasilkan melalui larutan cair dari 2,2-azobis-2-metil-propanimidamida. Antioksidan akan bereaksi dengan radikal peroksil dan menghambat degradasi pendaran zat warna (Teow *et al.*, 2007). Kelebihan metode pengujian ORAC adalah kemampuannya dalam menguji antioksidan hipofilik dan lipofilik sehingga akan menghasilkan pengukuran lebih baik terhadap total aktivitas antioksidan (Prior *et al.*, 2003 dalam Teow *et al.*, 2007). Kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan peralatan yang mahal (Awika *et al.*, 2003) dan metode ORAC hanya sensitif terhadap penghambatan radikal peroksil (Cronin, 2004).

2.7.4 Metode *Ferric antioxidant Reducing Power* (FRAP)

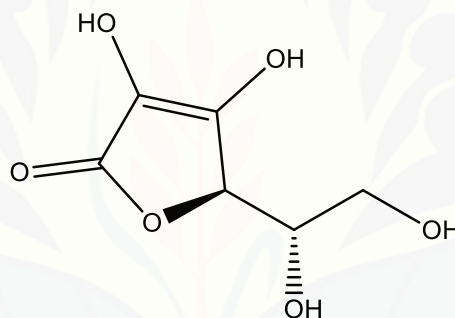
Shivaprasad *et al.* (2005) menyebutkan bahwa metode ini berprinsip pada kenaikan serapan dari campuran reaksi. Peningkatan pada serapan menunjukkan peningkatan pada aktivitas antioksidan. Pembentukan kompleks dalam metode ini terdiri dari kompleks kalium ferrisianida, asam trikloroasetat, dan besi (III) klorida yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan pada serapan campuran reaksi menunjukkan kekuatan mereduksi dari sampel.

2.8 Tinjauan Umum Vitamin C

Salah satu contoh antioksidan alami yaitu vitamin C. Menurut deMan (1999), vitamin C (Ascorbic Acid) terdapat dalam seluruh jaringan hidup dan dapat mempengaruhi reaksi oksidasi-reduksi dalam jaringan tersebut. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam menentukan aktivitas antioksidan dalam beberapa penelitian (Dalimartha dan Soedibyo, 1998). Sumber utama vitamin C terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Manusia dan kelinci untuk percobaan merupakan satu-satunya jenis primata yang tidak dapat mensintesis vitamin C.

Kebutuhan manusia akan vitamin C belum dapat ditentukan secara pasti. Namun, telah diketahui rata-rata kebutuhan vitamin C pada manusia per hari antara 45 sampai 75 mg. Keadaan stres yang berkelanjutan dan terapi obat-obatan bisa meningkatkan kebutuhan akan vitamin C.

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini, menurut Zakaria *et al.* (1996), merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Asam askorbat merupakan antioksidan alamiah yang terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran, yang selama pemasakan dapat mengalami kerusakan sampai sedikitnya setengahnya. Struktur vitamin C terdapat pada gambar 2.5 berikut ini



Gambar 2.5 Struktur Vitamin C

Asam askorbat merupakan antioksidan larut air. Asam askorbat menangkap secara efektif sekaligus O_2^* (anion superoksida) dan 1O_2 (Singlet oksigen). Asam askorbat dapat memutus reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi. Pada konsentrasi rendah, asam ini bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal peroksil LOO^* lalu berubah menjadi askorbil sedikit reaktif. Pada konsentrasi tinggi, asam ini tidak bereaksi. Asam askorbat mempunyai peranan penting dalam perlindungan DNA pada sperma (Fraga *et al.*, 1991).

Asam askorbat dapat pula bersifat sebagai prooksidan. Asam ini menaikan penyerapan zat besi di usus dan dapat mereduksi secara *in vitro*. Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang nantinya berfungsi dalam reaksi Fenton. Suplementasi vitamin C sering

dilakukan. Tindakan ini berguna dalam proses, penanganan dan pencegahan infeksi, keracunan rokok, alkohol dan lain-lain. Vitamin C juga disarankan dalam penanganan kanker walaupun saat ini belum ada bukti yang jelas.

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

2.9 Fraksinasi

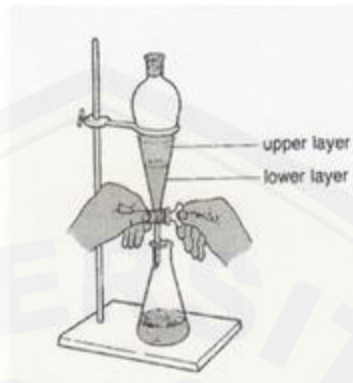
Fraksinasi merupakan proses pemisahan zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari nonpolar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Fraksinasi ini umumnya dilakukan dengan menggunakan metode partisi atau kromatografi kolom.

Pemisahan dengan kromatografi dilakukan dalam sebuah kolom yang diisi dengan fase diam yang berpori. Cairan digunakan sebagai fase gerak untuk mengelusi sampel keluar melalui kolom. Sampel akan bergerak ke bawah dengan bantuan fase gerak dan terpisah jika interaksi antara sampel dan fase diam berbeda.

Metode fraksinasi yang lain yakni metode partisi. Ekstrak (metanol, etanol 70% atau 96%) yang diperoleh masih sangat kompleks kandungan senyawanya sehingga perlu dilakukan fraksinasi partisi atau cair-cair. Umumnya, metode ini dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak metanol atau etanol ke dalam air hingga tepat larut. Tahap selanjutnya dipartisi bertingkat mulai dari heksana, kloroform, etil asetat dan butanol. Semua pelarut organik akan berada pada fase atas kecuali kloroform akan berada di bawah air. Semua fraksi partisi tersebut juga harus diuji kembali aktifitasnya (Saifudin, 2014).

Alat yang digunakan pada metode partisi yakni corong pisah (Gambar 2.6). Corong pisah yang berbentuk buah pear atau lebih bulat digunakan untuk mempartisi dua pelarut yang tetapan dielektrikunya sangat berbeda (polaritas

sangat berbeda misalnya air dan heksana). Corong pisah yang berbentuk lebih memanjang digunakan untuk dua pelarut yang polaritasnya berdekatan misalnya air dengan butanol (Saifudin, 2014).



Gambar 2.6 Proses fraksinasi dengan corong pisah
(Sumber : Saifudin, 2014)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total dari fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq) ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan April 2017 bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *Dendrothoe pentandra* (L.) Miq yang diambil dari pekarangan warga di Desa Tawangsari Kecamatan Gempol Kabupaten Pasuruan. Sampel dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

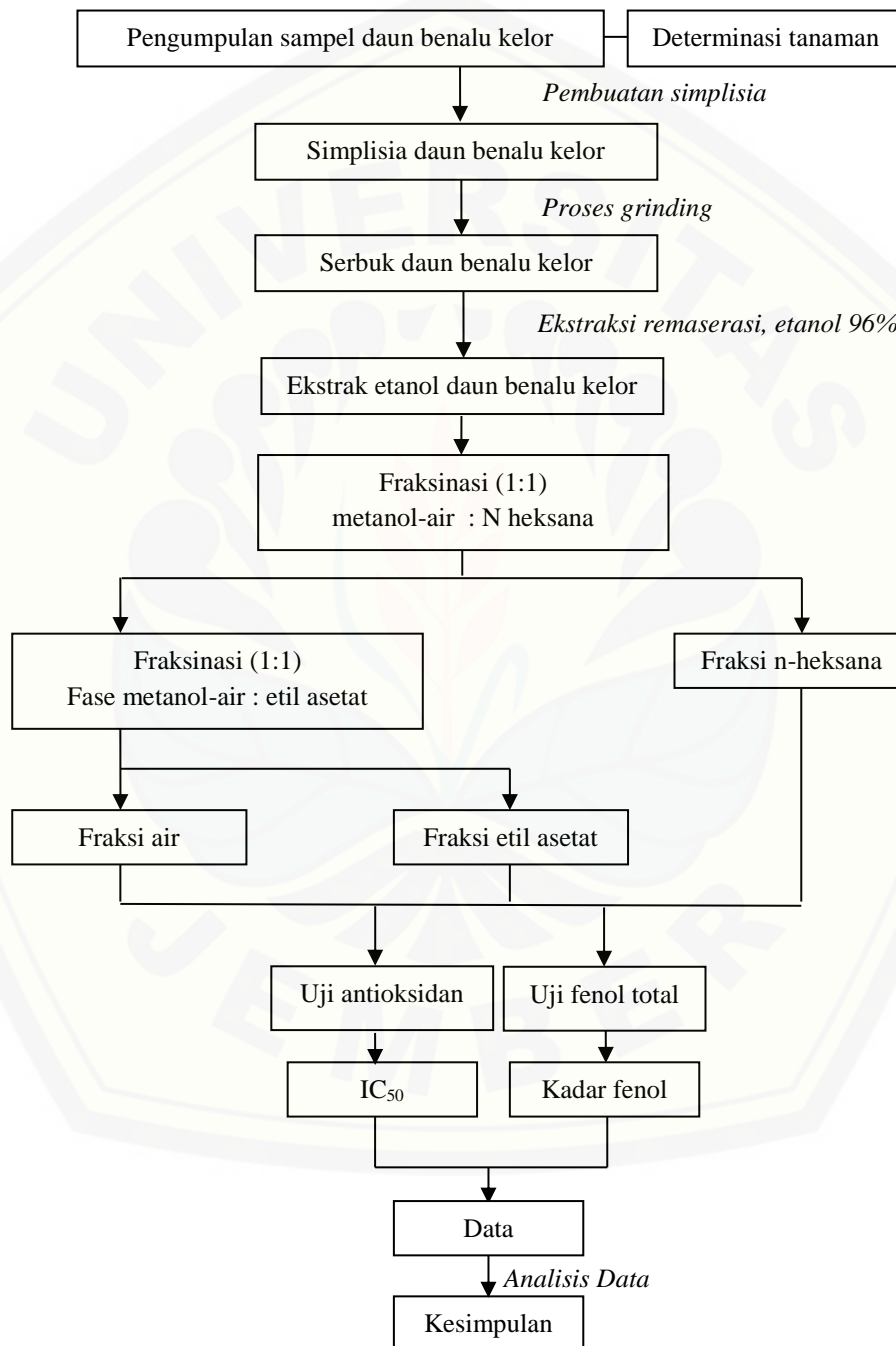
3.4 Rancangan Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini mencakup uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq). Tahap awal dalam penelitian ini yakni pengumpulan sampel yakni daun benalu kelor. Tahap berikutnya dilakukan pembuatan simplisia dan dilakukan ekstraksi dengan metode remaserasi. Penguapan pelarut pada ekstrak cair dengan *rotary evaporator* dilakukan untuk memperoleh ekstrak kental yang kemudian diuji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total dengan menggunakan standar asam galat. Data hasil pengujian antioksidan dan fenol total antara fraksi air, etil asetat dan n-heksana

ekstrak etanol daun benalu kelor dibandingkan dan dianalisis lalu diambil kesimpulan.

3.4.2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

3.4.3 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer (Hitachi U-1800), *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), timbangan analitik (Sartorius), botol ekstrak cair, kertas saring, corong *Buchner*, gunting *stainless steel*, kain hitam, ayakan diameter 2 mm, kuvet disposable, *ultrasonic cleaner* (Elmasonic), lemari pendingin, aluminium foil, mikropipet (Socorex), penghalus serbuk, oven, alat-alat gelas, dan *stopwatch*.

3.4.4 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Dendrothoe pentandra* (L.) Miq. yang diambil dari perkebunan warga di Desa Tawangsari Kecamatan Gempol Kabupaten Pasuruan, etanol 96%, akuades steril, etil asetat, n-heksana, metanol, vitamin C (PT. Brataco), standar asam galat (Sigma-Aldrich), difenilpikrilhidrazil/DPPH (Sigma-Aldrich), larutan folin ciocalteu (Merck), natrium karbonat.

3.5 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian adalah :

1. Daun yang digunakan adalah seluruh daun kecuali yang masih berupa kuncup daun.
2. Ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dari serbuk simplisia yang diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96%.
3. Fraksi air, etil asetat dan n-heksana adalah fase yang diperoleh dari proses partisi cair-cair dari ekstrak etanol daun benalu kelor yang dilarutkan terlebih dahulu dalam etanol : air (1:2) kemudian di partisi dengan fase n-heksana dan etil asetat.
4. Pengamatan besarnya aktivitas antioksidan dilihat dari besarnya nilai IC_{50}
5. Kadar fenol total dinyatakan dalam mgGAE/g ekstrak

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.).

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini untuk uji antioksidan adalah nilai IC₅₀ dan fenol total fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.).

3.6.3 Variabel Terkendali

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

3.7 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap, yaitu:

3.7.1 Determinasi Tanaman Benalu Kelor

Semua bagian tanaman Benalu Kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) dideterminasi di LIPI Kebun Raya Purwodadi untuk memastikan bahwa tanaman yang diuji merupakan benar-benar spesies *Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.

3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.)

Daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) dikumpulkan dan disortasi basah. Tahap selanjutnya yakni daun dicuci hingga bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan tanpa terkena sinar matahari secara langsung selama 3 hari dilanjutkan dengan pengeringan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam sampai daun dan menjadi kering yang ditandai dengan mudah diremas. Sortasi kering kemudian dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan komponen lain selain daun benalu

kelor. Simplisia kemudian diserbuk dengan *grinder* yang memiliki ayakan 2mm. Simplisia kemudian disimpan untuk selanjutnya digunakan sebagai bahan penelitian.

3.7.3 Ekstraksi Remaserasi

Ekstraksi simplisia benalu kelor menggunakan metode remaserasi yang mengacu pada penelitian Vardhio (2013) dengan beberapa modifikasi. Simplisia yang digunakan berupa serbuk kering. Proses remaserasi ini menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 50 gram simplisia direndam di dalam pelarut dengan perbandingan antara simplisia dengan pelarut 1:10. Larutan direndam selama 24 jam. Pengadukan dilakukan pada awal perendaman, kemudian larutan tersebut didiamkan pada suhu ruang. Maserat kemudian dipisahkan dan pelarutnya diganti sebanyak tiga kali. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* kemudian di oven pada suhu 50° C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.7.4 Fraksinasi

Sejumlah 3 gram ekstrak etanol daun benalu dilarutkan dalam 10 ml etanol dan akuades sebanyak 20 ml. Larutan ekstrak kemudian dipartisi dengan 30 ml pelarut n-heksana dalam corong pisah sebanyak 6 kali, dan fraksi n-heksana kemudian dikumpulkan. Residu dipartisi dengan pelarut etil asetat dengan menggunakan jumlah pelarut yang sama. Masing-masing fraksi etil asetat, fraksi air dan fraksi n-heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Ritna *et al.*, 2016).

3.7.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) dengan DPPH dilakukan berdasarkan Molyneux (2004) dengan beberapa modifikasi :

a. Pembuatan Larutan DPPH (0.1 mM)

Sebanyak 1 mg DPPH dilarutkan ke dalam 25 mL metanol sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan ini kemudian disimpan dalam botol gelap dan untuk setiap pengujian dibuat ulang.

b. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,5 mL dan 1,5 mL metanol sebagai *baseline* masing-masing dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis (Musyfiroh & Syarif, 2012).

c. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0.1 mM dipipet sebanyak 1,125 mL dan ditambahkan 0,375 mL metanol. Kemudian divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Gupta *et al*, 2007). Selanjutnya, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat.

d. Pembuatan Larutan Sampel

Larutan stok 2000 ppm dibuat dengan melarutkan 20 mg ekstrak ke dalam 10 mL metanol (ditambah beberapa tetes DMSO jika sampel kurang larut dalam metanol). Kemudian dilakukan pengenceran dengan memipet sejumlah tertentu larutan dan dimasukkan kedalam labu ukur ditambahkan metanol sehingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir.

e. Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C ditimbang 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai batas volume sehingga konsentrasi vitamin C sebesar 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan dipipet 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100 μL dan dimasukkan labu ukur 10 mL. Volume kemudian dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas.

f. Penetapan Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Vitamin C

Masing-masing sampel dipipet sebanyak 0,375 μL ditambahkan 1,125 μL larutan DPPH di dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit di dalam ruangan gelap. Sebagai kontrol positif, digunakan vitamin C yang juga diinkubasi dengan larutan DPPH dengan volume yang sama.

Selanjutnya kadar serapan larutan setelah inkubasi ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

g. Perhitungan

Perhitungan untuk menentukan persen peredaman larutan uji dan vitamin C digunakan rumus pada Persamaan 3.1

$$\% \text{ Inhibisi DPPH} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs larutan uji}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\% \dots \dots \dots 3.1$$

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh sebagai IC_{50} (Nurjanah, Izzati & Abdullah, 2011).

3.7.6 Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar fenol total fraksi air, etil asetat dan n-heksana ekstrak etanol daun benalu kelor (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) dilakukan berdasarkan Chan *et al.* (2009) dengan beberapa modifikasi :

a. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5 % ^{b/v}

Larutan Na_2CO_3 7,5 % ^{b/v} dibuat dengan melarutkan 7,5 gram Na_2CO_3 ke dalam 100 mL aquadest.

b. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Sebelum penetapan kadar fenol total, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dengan reagen folin-cioalceu. Sebanyak 0,15 ml Larutan standar asam galat ditambah dengan 0,75 ml reagen Folin-Cioalceu (1:10) dan didiamkan selama 6 menit. Kemudian, ditambahkan 0,6 ml larutan Na_2CO_3 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan

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

c. Pembuatan Baku Standar

Sebanyak 20 mg dan 30 mg standar asam galat ditimbang dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu dilarutkan metanol sampai tanda, kemudian diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk standar asam galat yaitu 1000 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol sampai tepat tanda sehingga diperoleh konsentrasi pada rentang 50 - 200 µg/ml.

d. Pembuatan Larutan Uji

Masing-masing fraksi ekstrak etanol daun benalu kelor ditimbang sebanyak 25 mg. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan dilarutkan metanol sampai tanda. Kemudian, larutan ekstrak diencerkan hingga konsentrasi larutan uji ekstrak menjadi 200 µg/ml

e. Pengukuran Serapan Sampel

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan cara 0,15 ml dari masing-masing larutan uji dan larutan standar ditambah dengan 0,75 ml reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan didiamkan selama 6 menit. Setelah 6 menit, ditambahkan 0,6 ml Na₂CO₃ 7,5%. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum.

f. Perhitungan

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

3.8 Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antioksidan dan kadar fenol total masing-masing ekstrak dan fraksi dianalisis secara statistik. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan *one way ANOVA*. Jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Jika data setelah ditransformasi telah normal dan homogen, dapat dilanjutkan dengan *one way ANOVA*. Penggunaan *one way ANOVA* dalam analisis data dikarenakan jumlah kelompok data lebih dari dua dan tidak berpasangan. Apabila data masih tidak normal atau tidak homogen, dilakukan uji statistik alternatif dengan *Kruskal-Wallis*. Jika data yang diperoleh dari *ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* telah signifikan, maka dilanjutkan analisis statistik dengan *post hoc* dengan *LSD* untuk *ANOVA* dan *Man-Whitney* untuk *Kruskal-Wallis*. Perbedaan dianggap signifikan apabila *p-value* $\leq 0,01$ dengan taraf kepercayaan 99%. Uji korelasi antara IC_{50} dengan dilakukan dengan metode *Pearson*.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah fraksi etil asetat, fraksi n-heksana, fraksi air. Hasil pengujian masing-masing sampel, memiliki perbedaan yang signifikan satu terhadap yang lain.
2. Kadar fenol total tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat dengan $67,4 \pm 0,82$ mg GAE/g fraksi, kemudian fraksi n-heksana ($21,35 \pm 1,86$ mg GAE/g fraksi) dan fraksi air ($9,42 \pm 1,16$ mg GAE/g fraksi)
3. Semua nilai p dari uji ANOVA yang diperoleh adalah 0,000 ($p < 0,01$). Maka perbedaan IC_{50} berbeda secara bermakna pada semua kelompok fraksi.
4. Korelasi antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}) memiliki nilai R, yaitu -0,774. Terdapat korelasi yang signifikan antara kadar fenol total dengan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai signifikansinya ($p > 0,05$).

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa pada masing-masing fraksi.
2. Perlu dilakukan pemurnian fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun benalu kelor dengan metode pemisahan yang sesuai untuk mengetahui senyawa murni yang berperan sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo, S. A., Dzoyem, J. P., Shai, L. J., Eloff, J. N. 2015. The Antiinflammatory and Antioxdant Activity of 25 Plant Species Used Traditionally to Treat Pain in Sourthen Africa. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15: 159
- Adler, L. S. 2002. Host Effect On Herbivory And Pollination In A hemiparasitic Plant. *The Ecological Society of America*. 8(10): 2700-2710.
- Amarowicz, R., Naczka, M. & Shahidi, F. 2000. Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls. *JAOCs* 77: 957-961.
- Anita, A., Khotimah, S. & Yanti, A. H. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhy*. *Jurnal Protobiont*. 3(2): 268-272.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A. H. 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. Res.* 21, 17–25
- Artanti, N., Firmansyah, T. & Darmawan, A. 2012. Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoe (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02(01): 24-27.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., Cisneros-Zevallos, L. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 : 6657–6662.
- Bangol, E., Momuat, L. I & Abidjulu, J. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan n-Heksana dari Rumpun Santa Maria (*Artemisia vulgaris* L.) Pada Minyak Ikan. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 14 No. 2
- Barlow, B. A. 1967. Loranthaceae. In: C Kalkman, DW Kirkup, HP Nooteboom, PF Steven, WJJO de Wilde (Eds.) *Flora Malesiana*. Series I. Vol. 13. Rijksherbarium/Hortus Botanicus. The Netherlands. 209-401.
- Behera, S. 2012. Evaluation of antioxidant activity of *Ocimum canum* hydroalcoholic leaf extract in the prevention of hepatic ischaemia. *Research Article*. ISSN : 2046-1690.

- Blainski, A., Lopes, G. C. & de Mello, J. C. P. 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 18 : 6852-6865.
- Box, J. D. 1983. Investigation of The Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for The Determination of Polyphenolic Substance In Natural Waters. *Water Res.* Vol 17 (5) : 511-523.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P., Lianto, F. S., Yong, M. Y. 2009. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chem.* 113 : 166-172.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N. P., Phivtongngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K. 2008. The In Vitro and Ex Vivo Antioxidant Properties, Hypolipidaemic And Antiatherosclerotic Activities of Water Extract of *Moringa oleifera* Lam Leaves. *Journal Ethnopharmacol.* (116) : 439-446
- Cronin, J. R. 2004. Comparing Antioxidant Values with The ORAC Method. *Alternative and Complementary Therapies* Vol. 10 (3): 167-170.
- Dalimarta, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat di Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidaya.
- Das, N., Islam, E., Jahan., Islam, M. S., Khan, Islam. M. R. & Parvin. 2014. Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 14:45.
- Davehat, F. L., Tomasi, S., Fontanel, D., Boustie, J. 2002. Flavonols from *Scurrula ferrugines* Danser (Loranthaceae). *Z. Naturforsch.* 57c :1092-1095.
- De Man, J. M. 1999. *Principles of Food Chemistry*. 3rd Edition. An Aspen Publisher. Maryland
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995b. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Fajriah, S., Darmawan, A., Sundowo, A., Artanti, N. 2007. Isolasi Senyawa Antioksidan dan Ekstrak Etil asetat Daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* L.Miq yang Tumbuh pada Inang Lobi-lobi. *Jurnal Kimia Indonesia.* 2(1):17-20.
- Fikriyah, F. I. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenol Tota pada Kombinasi Ekstrak Etanol Mangga Pakel dan Daun Salam. *Skripsi*. Jember : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Fitrilia, T., Bintang, M., & Safithri, M. 2015. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Clove Mistletoe Leaf Extracts (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). *IOSR Journal Of Pharmacy*. 5(8): 13-18
- Fraga, C. G., Mohchnik, P. A., Shigenage, M. K., Helbock, H. J., Jacob, R. A., Ames, B. N. 1991. *Ascorbic Acid Protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm*. Proc. Natl. Acad Sci : USA. 88 : 11003- 11006
- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., Li, H. B. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem Journal*. 129:345–350.
- Fuglie, L. J. 2001. *The Miracle Tree: Moringa Oleifera: natural nutrition for the tropics*. Church World Service : Dakar. pp: 68.
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., Scaccini, C. 1998. Antioxidant Activity of Different Phenolics Fractions Separated from an Italian Red Wine. *J. Agric. Food Chem* 46 : 361-367.
- Global Biodiversity Information Facility (GBIF). 2016. <http://www.gbif.org/species/4001649/classification> (diakses tanggal 17 April 2017 : 17.45)
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism of Antioxidan Action in Vitro* Di dalam B.J.F. Hudson. ed. Food Antioxidan. Elvisier Applied Science. Lo
- Gordon. 2001. *Antioxidants in Food*. New York : CRC Press
- Gupta, M., Mazumder., Gomathi, P. 2007. Antioxidant and Antimicrobial properties of Galega purpurea root. *Asian Journal of Plant Science*. 6 (3) : 533-537
- Halliwell, B & Gutteridge, J. M. C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. Newyork : Oxford University Press.
- Hanani, E., Mun'im, A., Sekarini, R., Wiryowidagdo, S. 2006. Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons Laut dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 6:1-3.
- Hanif, R. M. A., Kartika, R., Simanjuntak, P. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Ekstrak n-Heksan Batang Benalu Tanaman Jeruk (*Dendrophthoe pentandra* (.) Miq). *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol.14 : 1
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Iwang S. penerjemah. Bandung: ITB Press Terjemah dari: *Phytochemical Method*.

- Hutapea, J. R. 1990. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Jilid II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Integrated Taxonomic Information System. 2017. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503874#null. (diakses tanggal 17 April 2017 : 18.45).
- Ishizu., Winarno., Tsujno., Morita., Shibuya. 2002. Stereochemical Structure of Perseitol-K Complex Isolated from the Leaves of *Scurulla fusca* (Loranthaceae). *Indonesian Medical Plant* 50(4).489-492.
- Isnindar., Setyowati, E. R., & Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* L.F) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazin). 16(3) : 157 – 164
- Khomsan. 2006. *Solusi Makanan Sehat*. Jakarta : PT Raja Grafindo Persada
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. 2002. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound. *Journal of Agric.Food Chem.* 50 : 2161-2168.
- Kumalaningsih, Sri. 2006. *Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Trubus Agrisarana : Surabaya.
- Kurniasih. 2013. *Khasiat dan Manfaat Daun Kelor*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Lisdawati, V. & Kardono, B. S. 2006. Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Media Litbang Kesehatan.* (16) : 4.
- Lukmanto. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Kenari (*Canarium indicum* (L.)). *Skripsi*. Jember : Fakultas Farmasi Universitas Jember
- Margaretta, S., Handayani, D. S., Indarswati, N., Hindarso, H. 2011. Ekstraksi Senyawa Fenol *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Sebagai Antioksidan. *Widya Teknik.* Vol.10 No 1 : 21-30.
- Marinova, D., Ribanova, F., Atanassova, M. 2005. Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy.* (40) : 3 255-260

- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2) : 211-219 (Online) (15 April 2017, 10:50).
- Multiawati, N. 2013. Uji Antikanker Ekstrak Metanol Daun benalu kelor (*Helixanthera sessiliflora* (Merr.) Denser) Terhadap *Cell Line* Kanker Payudara T47D. Tidak diterbitkan. Skripsi. Yogyakarta : Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Musfiroh, E., Syarief. 2012. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nanopartikel Emas dengan Berbagai Konsentrasi sebagai Material Antiaging dalam Kosmetik. *UNESA Journal of Chemistry.* Vol. 1 : 2
- Nair, I. C., Jayachandran, K., Shashidhar, S. 2008. Biodegradation of Phenol. *African Journal of Biotechnology.* Vol. 7 : (25) 4951-4958.
- Nugraha, Aditya. 2013. *Bioaktivitas Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera)* terhadap *Eschericia coli* penyebab Kolibasilosis pada Babi. *Tesis.* Denpasar: Universitas Udayana
- Nurjanah., Izzati, L., Abdullah, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp.*). *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol. 16 (3) 119-124
- Pine, S. H. 1988. *Kimia Organik.* Terbitan Keempat. Bandung: Penerbit ITB
- Pitoyo, S. 1996. *Benalu Holtikultura: Pengendalian dan pemanfaatan.* Ungaran: Trubus Agriwidaya.
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories . *Analitical Progress.* Vol :19. No. 2.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 53, 4290–4303.
- Rahmawati, Anita. 2009. Kandungan Fenol Total Ekstrak Mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Skripsi.* Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Ritna, Agus., Anam, Syaiful., Khumaidi, Akhmad. 2016. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia Sp.*) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Journal of Pharmacy.* Vol 2 (2) : 83-89
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R., Mulatsih, W. 2010. Antioxidant Activity, Total Phenolic, and Total Flavonoid of Extracts and

- Fractions of Red Fruit (*Pandanus conoidens* Lam). *International Food Research Journal*. 17 : 97-106.
- Saifudin, Azis. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik. Pemurnian Ed.1*. Yogyakarta : Deepublish.
- Sani, R. N., Nisa, R. D., Andriani & Maligan, J. M. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2): 121-126.
- Saripah, R. S. A., Sunalti, M., Norizan A. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of fruits of *Ficus deltoidea* var *angustifolia* sp. *MJAS*.13(2):146-150.
- Sarker, S. D. & Latif, Z. 2006. *Alexander I. Gray Natural Products Isolation*. New Jersey : Human Press.
- Sarwono, P. 2009. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta : Yayasan Bina Kusuma.
- Sayuti, Kesuma. & Yenrina, Rina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang : Andalas University Press.
- Shahidi, F., & M. Naczk. 1995. *Food Phenolics*. Technomic pub. Co. Inc. LancasterBasel.
- Sharma, S. 2014. In vitro evaluation of antioxidant activity of methanolic and petroleum ether extracts from seeds of *Benincasa hispida*. *J Nat. Plant Resour* : 4(4):31-4.
- Shivaprasad, H. N., Mohan, S., Kharya, M. D. 2005. In Vitro Models for Antioksidant Activity Evaluation. *A Review*.
- Sholehuddin, M. 2013. Uji Antiproliferasi Ekstrak Etil Asetat Daun Benalu Kelor (*Helixanthera sessiflora* (Merr.) Denser) Terhadap *Cell Line* Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Yogyakarta : Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Sibuea, P. 2003. *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*. Yogyakarta : Sinar Harapan
- Simbolan, J. M., Simbolan, M., Katharina N. 2007. *Cegah Malnutrisi dengan Kelor*. Yogyakarta: Kanisius.

- Soejono. 1995. *Inventarisasi Pohon Inang Benalu di Kebun Raya Purwodadi Pasuruan, Jawa Timur*. Makalah Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia IX. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2 (2) : 53-61.
- Sunaryo. 1998. Identifikasi Kerusakan-Kerusakan Tumbuhan Inang Oleh Parasit *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.(Loranthaceae): Sebuah studi kasus di Tahura bengkulu. *Berita Biologi*. 4(2): 80-85.
- Syahrizal, D. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit yang Dipapar Plumbum. *Tesis*. Sumatera Utara : Universitas Sumatera Utara
- Teow, C. C., Van-Den, Truong., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., Yencho, G. C. 2007. Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*. 103: 829–838.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, G., Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1 Issue 1.
- Uji, T. & Samiran. 2005. Keanekaragaman Jenis Benalu dan Tumbuhan Inangnya di Kebun Raya Purwodadi, Jawa Timur. Laporan Teknis 2005. Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Uji, T., Sunaryo. & Rachman, E. 2007. Keanekaragaman Jenis Benalu Parasit pada Tanaman Koleksi di Kebun Raya Eka Karya, Bali. *Berk. Penel. Hayati*. 13(1-5).
- Utami, P., Puspaningtyas, D. E. 2013. *The miracle of herbs*. Jakarta: AgroMedia
- Valkenburg van J. L. C. H. 2003. *Dendrophthoe; Scruella; Viscum*. In: R. H. M. J. Lemmens dan N. Bunyaphatsara (Eds.). *Medical and Poisonous Plants 3*. PROSEA. Backhuys Publisher : Leiden.
- Van Steenis. 2008. *Flora edisi 7*. Jakarta: PT Pradnya Paramita.
- Vardheo, D. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimiawi Ekstrak Benalu Jeruk. *Skripsi*. Bogor : Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

- Vermerris, W. & Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer : The Netherlands
- Vicas, S. I., Rugina, D. & Socaciu, C. 2012. *Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and Health*. China : Intech
- Wijaya, A. 1996. *Radikal Bebas dan Parameter Status Antiosidan*. *Forum Diagnosticum*. Lab Klinik Prodia 1:1-12
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta
- Windari, J. S & Rahajoe. 1998. Keanekaragaman Jenis Benalu di Pulau Jawa. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* (4) : 25-29
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita., Erowati, T. I. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. 1: 34-43
- Zakaria, F. R., Irawan, S. M., Pramudya, dan Sanjaya. 2000. Intervensi Sayur dan Buah Pembawa Vitamin C dan E Meningkatkan Sistem Imun populasi Buruh Pabrik di Bogor. dalam : Buletin Teknologi dan Industri Pangan.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi

a. Benalu Kelor

	<p>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046 website : http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</p>	
<p>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI No. 088 /IPH.6/HM/II/2017</p>		
<p>Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :</p>		
<p><u>Aini Zuhriyah, NIM : 132210101048</u></p>		
<p>Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 31 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 339 nama ilmiahnya adalah :</p>		
Genus	: <i>Dendrophoe</i>	
Species	: <i>Dendrophoe pentandra</i> (L.) Miq.	
<p>Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVI klasifikasinya adalah sebagai berikut :</p>		
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>	
Class	: <i>Magnoliopsida</i>	
Subclass	: <i>Rosidae</i>	
Ordo	: <i>Santalales</i>	
Family	: <i>Loranthaceae</i>	
<p>Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.</p>		
<p>Purwodadi, 9 Pebruari 2017 An. Kepala Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan</p>		
 		
<p>Deden Mudiana, S.Hut, M.Si</p>		

b. Kelor



LIPI

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



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No. 8182 /IPH.6/HM/II/2017

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

Aini Zuhriyah, NIM : 132210101048

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 31 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume 1, tahun 1963, halaman 186 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Moringa*
 Spesies : *Moringa oleifera* Lmk

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

Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Dilleniidae*
 Ordo : *Capparales*
 Family : *Moringaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 9 Pebruari 2017
 An. Kepala
 Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

Lampiran 4.2 Data Rendemen Ekstrak Etanol Daun Benalu Kelor

Berat wadah + ekstrak etano l	=	134,97 g
Berat wadah	=	125,46 g
Berat ekstrak etanol	=	9.51 g
Rendemen ekstrak etanol	=	$\frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk awal}} \times 100\%$
	=	$\frac{9,51 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100\%$
	=	19,02 %



Lampiran 4.3 Rendemen Hasil Fraksinasi

A. Fraksi n-heksana

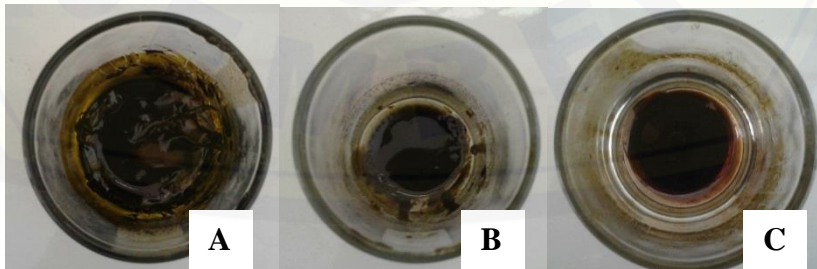
$$\begin{aligned}
 \text{Berat ekstrak kental} &= 9,05 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah} &= 127,06 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah + fraksi} &= 129,46 \text{ g} \\
 \text{Berat fraksi} &= 2,40 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi n-heksana} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak kental}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,4 \text{ g}}{9,05} \times 100\% \\
 &= 26,67 \%
 \end{aligned}$$

B. Fraksi etil asetat

$$\begin{aligned}
 \text{Berat wadah} &= 126,67 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah + fraksi} &= 127,59 \text{ g} \\
 \text{Berat fraksi} &= 0,92 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi n-heksana} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak kental}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,92 \text{ g}}{9,05} \times 100\% \\
 &= 10,22 \%
 \end{aligned}$$

C. Fraksi Air

$$\begin{aligned}
 \text{Berat wadah} &= 126,96 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah + fraksi} &= 128,06 \text{ g} \\
 \text{Berat fraksi} &= 1,10 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi n-heksana} &= \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak kental}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,10 \text{ g}}{9,05} \times 100\% \\
 &= 12,22 \%
 \end{aligned}$$



Gambar Fraksi n-heksana(a), fraksi etil asetat(b) dan fraksi air(c)

Lampiran 4.4 Pembuatan DPPH

Konsentrasi DPPH yang akan dibuat = 0,01 mM (Molyneux, 2004)

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

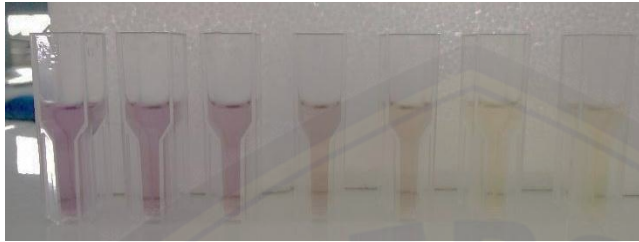
$$0,0001 \text{ M} = \frac{x}{0,050 \text{ L}} \times \frac{394,3 \text{ g/mol}}{1 \text{ mol}}$$

$$0,0001 \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{x}{0,050 \text{ L}} \times \frac{394,3 \text{ g/mol}}{1 \text{ mol}}$$

$$x = 0,0001 \times 394,33 \times 0,050 \text{ g} = 0,00197 \text{ g}$$

Lampiran 4. 5 Pembuatan Larutan Uji

a. Vitamin C



Larutan Induk :

$$1) \frac{25 \text{ mg}}{0,025 \text{ L}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

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

$$2) \frac{25 \text{ mg}}{0,025 \text{ L}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

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

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,75 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 15 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{2,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 25 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	5,6 µg/mL;10,12 µg/mL;15,12
Larutan induk (1012 µg/mL dan 1008 µg/mL)	µg/mL;20,16 µg/mL;25,3 µg/mL; 30,24 µg/mL
Replikasi 2	5,4 µg/mL;10,8 µg/mL;15,12
Larutan induk (1008 µg/mL dan 1008 µg/mL)	µg/mL;20,16 µg/mL;25,2 µg/mL; 30,24 µg/mL
Replikasi 3	5,4 µg/mL;10,8 µg/mL;15,18
Larutan induk (1008 µg/mL dan 1012 µg/mL)	µg/mL;20,24 µg/mL;25,2 µg/mL; 30,36 µg/mL

b. Fraksi air

Larutan Induk :

$$1) \frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ µg/mL} = 200 \text{ µg/mL}$$

$$2) \frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ µg/mL} = 400 \text{ µg/mL}$$

$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{3,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL}$ $= 140 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{4 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 160 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 120 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{4,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL}$ $= 180 \text{ } \mu\text{g/mL}$
	$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$ $= 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	81,6 $\mu\text{g/mL}$; 102 $\mu\text{g/mL}$; 122,4
Larutan induk (2040 $\mu\text{g/mL}$ dan 2040 $\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{g/mL}$; 142,8 $\mu\text{g/mL}$; 163,2 $\mu\text{g/mL}$; 183,6 $\mu\text{g/mL}$; 204 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	81,2 $\mu\text{g/mL}$; 101,5 $\mu\text{g/mL}$; 122,4
Larutan induk (2030 $\mu\text{g/mL}$ dan 2030 $\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{g/mL}$; 142,8 $\mu\text{g/mL}$; 162,4 $\mu\text{g/mL}$; 183,6 $\mu\text{g/mL}$; 203 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	81,2 $\mu\text{g/mL}$; 101,5 $\mu\text{g/mL}$; 121,8
Larutan induk (2040 $\mu\text{g/mL}$ dan 2030 $\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{g/mL}$; 142,1 $\mu\text{g/mL}$; 162,4 $\mu\text{g/mL}$; 182,7 $\mu\text{g/mL}$; 203 $\mu\text{g/mL}$

c. Fraksi etil asetat

Larutan Induk :

1) $\frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Dencerkan $\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$

2) $\frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$

$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = 10 $\mu\text{g/mL}$	
$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = 20 $\mu\text{g/mL}$	
$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = 30 $\mu\text{g/mL}$	$\frac{2,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = 40 $\mu\text{g/mL}$	$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	10,1 $\mu\text{g/mL}$; 20,2 $\mu\text{g/mL}$; 30,3 $\mu\text{g/mL}$;
Larutan induk (2020 $\mu\text{g/mL}$ dan 2070 $\mu\text{g/mL}$)	41,4 $\mu\text{g/mL}$; 51,75 $\mu\text{g/mL}$; 62,1 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	10,35 $\mu\text{g/mL}$; 20,7 $\mu\text{g/mL}$; 31,05
Larutan induk (2060 $\mu\text{g/mL}$ dan 2070 $\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{g/mL}$; 41,2 $\mu\text{g/mL}$; 51,5 $\mu\text{g/mL}$; 61,8 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	10,3 $\mu\text{g/mL}$; 20,6 $\mu\text{g/mL}$; 30,9 $\mu\text{g/mL}$;
Larutan induk (2060 $\mu\text{g/mL}$ dan 2020 $\mu\text{g/mL}$)	40,4 $\mu\text{g/mL}$; 50,5 $\mu\text{g/mL}$; 60,6 $\mu\text{g/mL}$

d. Fraksi n-heksana

Larutan Induk :

1) $\frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Diencerkan $\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$

2) $\frac{20 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$

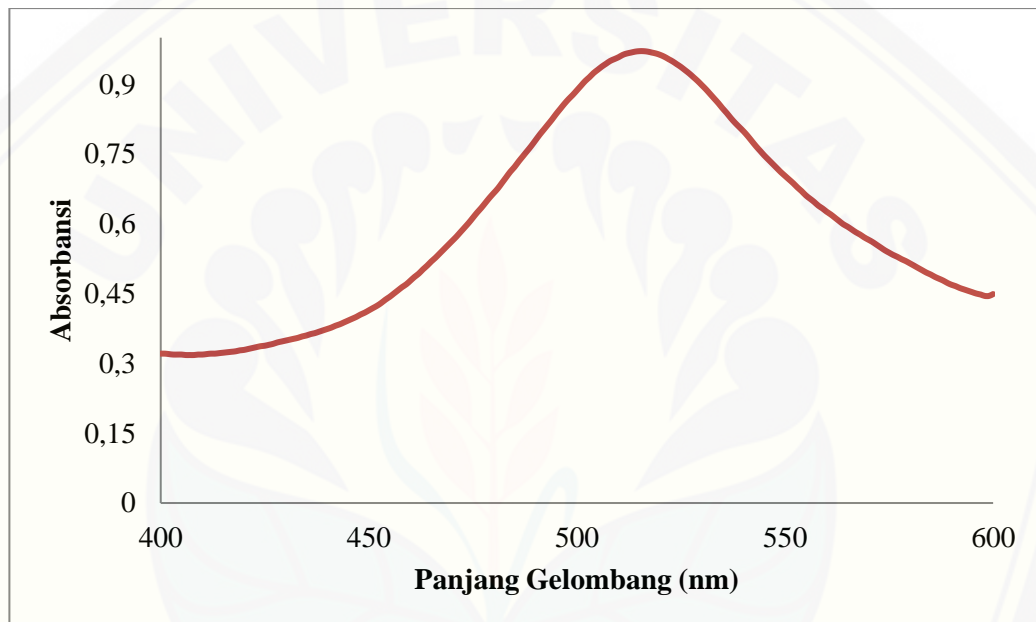
$\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} =$ 100 $\mu\text{g/mL}$	$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{0,6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} =$ 120 $\mu\text{g/mL}$	$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$	

Sampel	Seri Konsentrasi
Replikasi 1	10,05 $\mu\text{g/mL}$; 20,1 $\mu\text{g/mL}$; 40,2
Larutan induk	$\mu\text{g/mL}$; 60,6 $\mu\text{g/mL}$; 80,8 $\mu\text{g/mL}$;
(2010 $\mu\text{g/mL}$ dan 2020 $\mu\text{g/mL}$)	101 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 2	10,15 $\mu\text{g/mL}$; 20,3 $\mu\text{g/mL}$; 40,6
Larutan induk	$\mu\text{g/mL}$; 60,9 $\mu\text{g/mL}$; 81,2 $\mu\text{g/mL}$;
(2030 $\mu\text{g/mL}$ dan 2030 $\mu\text{g/mL}$)	101,5 $\mu\text{g/mL}$; 121,8 $\mu\text{g/mL}$
Replikasi 3	10,2 $\mu\text{g/mL}$; 20,4 $\mu\text{g/mL}$; 40,8
Larutan induk	$\mu\text{g/mL}$; 60,3 $\mu\text{g/mL}$; 80,4 $\mu\text{g/mL}$;
(2040 $\mu\text{g/mL}$ dan 2010 $\mu\text{g/mL}$)	100,5 $\mu\text{g/mL}$; 120,6 $\mu\text{g/mL}$

Lampiran 4.6 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

a. Grafik

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



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

b. Data absorbansi

Panjang Gelombang	Abs	Panjang Gelombang	Abs
550	0,703	525	0,937
549	0,711	524	0,943
548	0,72	523	0,949
547	0,729	522	0,954
546	0,738	521	0,959
545	0,747	520	0,963
544	0,757	519	0,966
543	0,767	518	0,968
542	0,778	517	0,97
541	0,789	516	0,971
540	0,799	515	0,971
539	0,808	514	0,97
538	0,817	513	0,968
537	0,827	512	0,966
536	0,838	511	0,963
535	0,848	510	0,958
534	0,859	509	0,954
533	0,869	508	0,95
532	0,879	507	0,944
531	0,889	506	0,938
530	0,898	505	0,931
529	0,907	504	0,924
528	0,915	503	0,915
527	0,923	502	0,907
526	0,93	501	0,897
		500	0,887

Lampiran 4.7 Perhitungan % peredaman DPPH dan IC₅₀

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

Sampel	IC ₅₀ (µg/mg)	Rata-rata IC ₅₀ (µg/mg)	SD	RSD (%)
Vitamin C	$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$	$\bar{x} = \frac{3,443 + 3,464 + 3,474}{3}$ =3,460	$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 (xi - \bar{x})^2}{3 - 1}}$ = 0,016	$\%RSD = \frac{0,047}{3,409} \times 100\%$ = 0,455
	3,443			
	3,464			
	3,474			
Fraksi air	29,552	29,461	0,291	0,988
	29,696			
	29,135			
Fraksi etil asetat	7,049	7,077	0,028	0,390
	7,104			
	7,077			
Fraksi n-heksana	10,951	10,898	0,114	1,047
	10,767			
	10,976			

a. Vitamin C

- Replikasi 1

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	% inhibisi	IC ₅₀
5,6	5	1,12	0,712	0,812	12,315	3,443
10,12	5	2,024	0,578	0,812	28,817	
15,12	5	3,024	0,453	0,812	44,211	
20,16	5	4,032	0,33	0,812	59,359	
25,3	5	5,06	0,217	0,812	73,275	
30,24	5	6,048	0,079	0,812	90,274	

- Replikasi 2

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	% Inhibisi	IC ₅₀
5,4	5	1,08	0,725	0,812	10,714	3,464
10,8	5	2,16	0,578	0,812	28,818	
15,12	5	3,024	0,438	0,812	46,059	
20,16	5	4,032	0,326	0,812	59,852	
25,2	5	5,04	0,207	0,812	74,507	
30,36	5	6,072	0,082	0,812	89,901	

- Replikasi 3

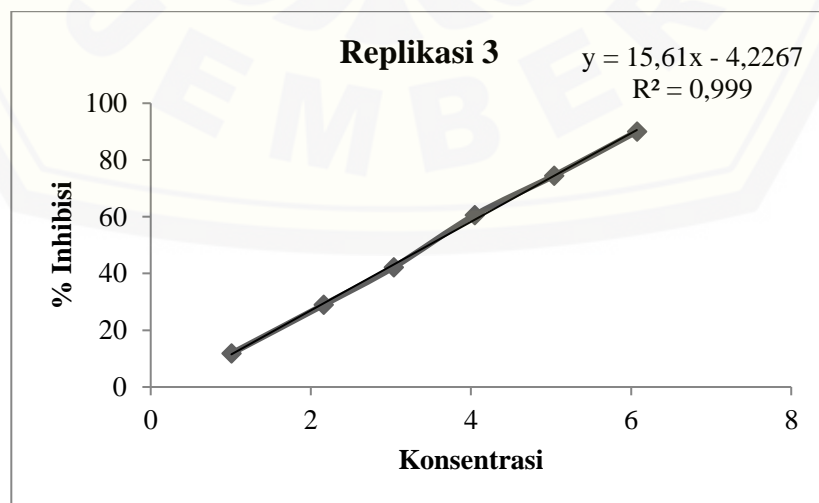
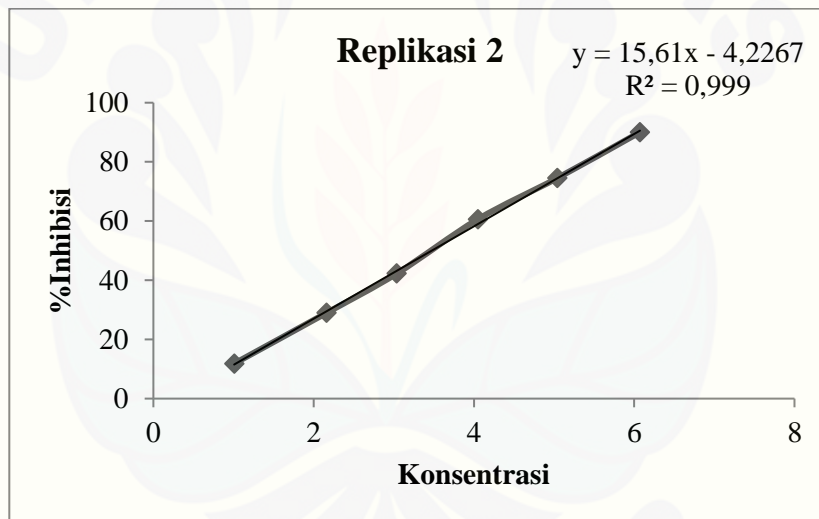
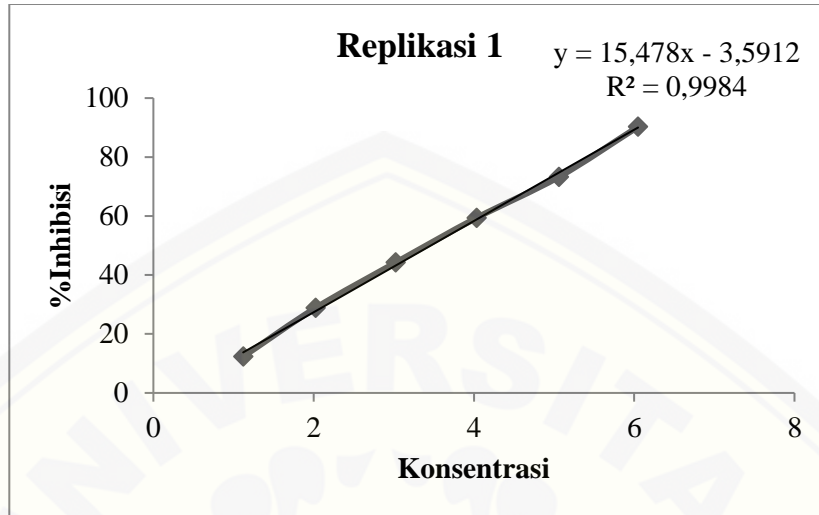
Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	% Inhibisi	IC ₅₀
5,04	5	1,008	0,716	0,812	11,823	3,474
10,8	5	2,16	0,577	0,812	28,941	
15,18	5	3,036	0,469	0,812	42,241	
20,24	5	4,048	0,32	0,812	60,591	
25,2	5	5,04	0,207	0,812	74,507	
30,36	5	6,072	0,081	0,812	90,025	

Rata-rata IC₅₀ = 3,460 µg/mL

SD = 0,016

RSD = 0,455%

- Regresi Linier IC₅₀ Vitamin C



b. Fraksi air

- Replikasi 1

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
81,6	5	16,32	0,572	0,937	38,954	29,552
102	5	20,4	0,525	0,937	43,970	
122,4	5	24,48	0,516	0,937	44,930	
142,8	5	28,56	0,466	0,937	50,266	
163,2	5	32,64	0,456	0,937	51,334	
183,6	5	36,72	0,412	0,937	56,029	
204	5	40,8	0,384	0,937	59,018	

- Replikasi 2

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
81,2	5	16,24	0,565	0,937	39,701	29,696
101,5	5	20,3	0,539	0,937	42,475	
122,4	5	24,48	0,512	0,937	45,357	
142,8	5	28,56	0,47	0,937	49,839	
162,4	5	32,48	0,457	0,937	51,227	
183,6	5	36,72	0,412	0,937	56,029	
203	5	40,6	0,386	0,937	58,804	

- Replikasi 3

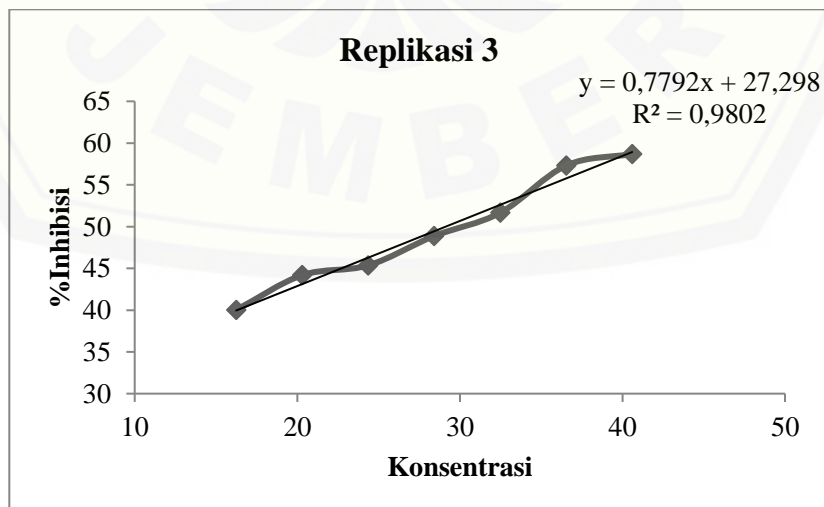
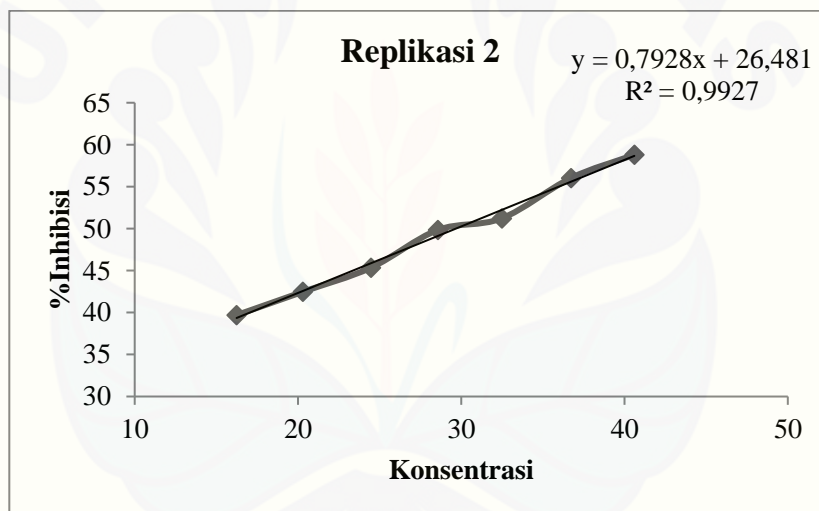
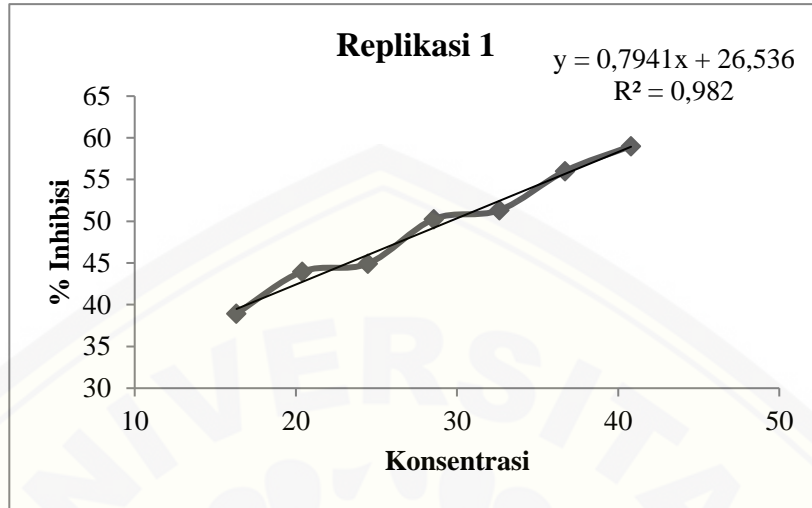
Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
81,2	5	16,24	0,562	0,937	40,021	29,235
101,5	5	20,3	0,523	0,937	44,183	
121,8	5	24,36	0,512	0,937	45,357	
142,1	5	28,42	0,479	0,937	48,879	
162,4	5	32,48	0,453	0,937	51,654	
182,7	5	36,54	0,4	0,937	57,310	
203	5	40,6	0,387	0,937	58,697	

Rata-Rata IC₅₀ = 29,461 µg/mL

SD = 0,291

RSD = 0,988 %

- Regresi linier IC₅₀ Fraksi air



c. Fraksi etil asetat

- Replikasi 1

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,1	5	2,02	0,66	0,843	21,708	7,49
20,2	5	4,04	0,559	0,843	33,689	
30,3	5	6,06	0,43	0,843	48,992	
41,4	5	8,28	0,4	0,843	52,550	
51,75	5	10,35	0,27	0,843	67,972	
62,1	5	12,42	0,17	0,843	79,834	

- Replikasi 2

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,35	5	2,07	0,669	0,843	20,641	7,104
20,7	5	4,14	0,556	0,843	34,045	
31,05	5	6,21	0,434	0,843	48,517	
41,2	5	8,24	0,403	0,843	52,195	
51,5	5	10,3	0,273	0,843	67,616	
61,8	5	12,36	0,161	0,843	80,902	

- Replikasi 3

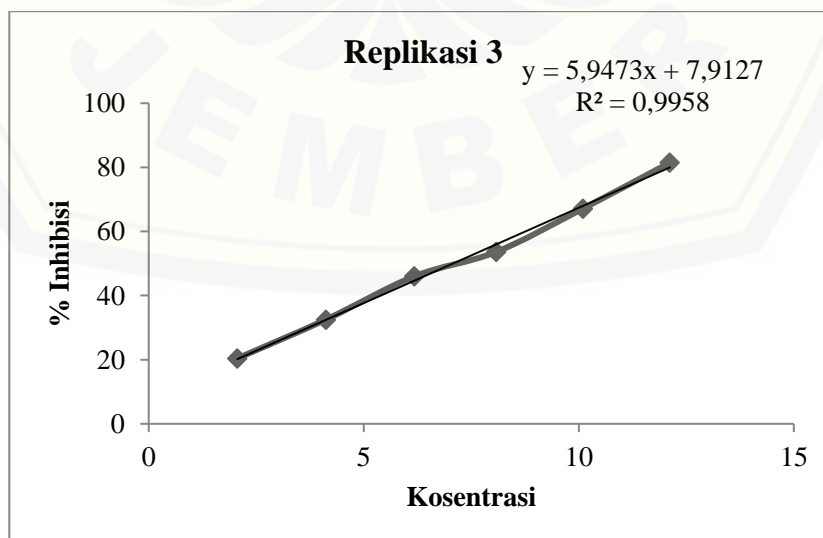
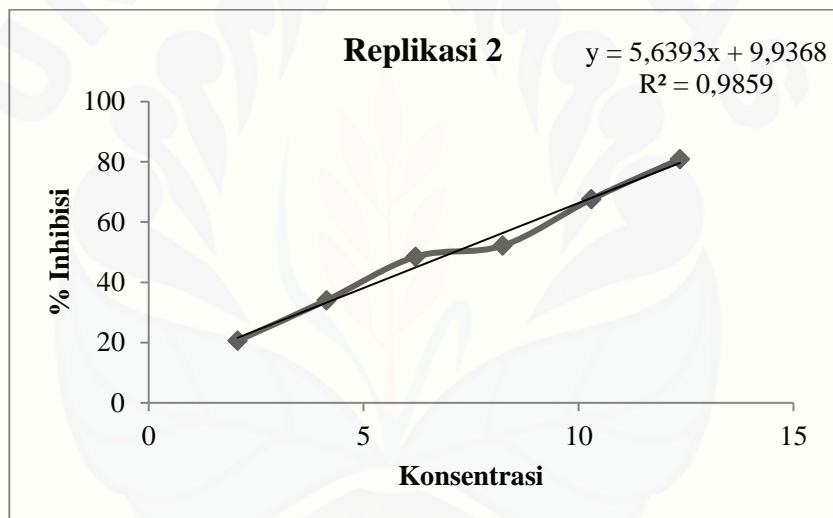
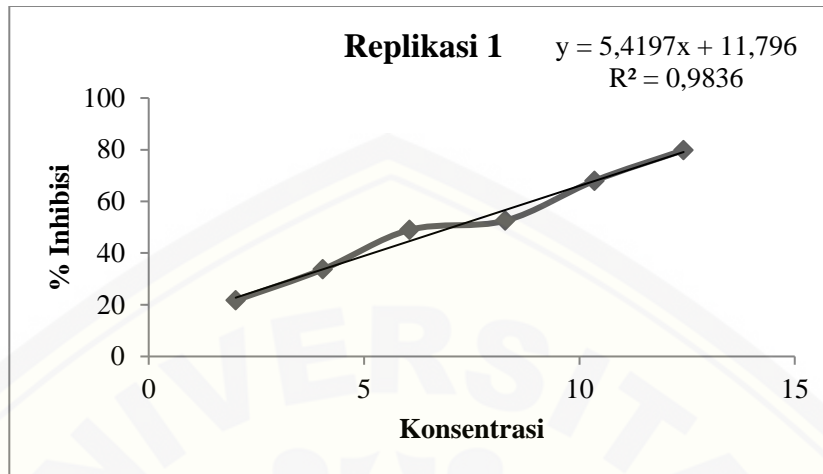
Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,3	5	2,06	0,671	0,843	20,403	7,077
20,6	5	4,12	0,569	0,843	32,503	
30,9	5	6,18	0,455	0,843	46,026	
40,4	5	8,08	0,391	0,843	53,618	
50,5	5	10,1	0,277	0,843	67,141	
60,6	5	12,12	0,156	0,843	81,495	

Rata-rata IC₅₀ = 7,077 µg/mL

SD = 0,028

RSD = 0,390 %

- Regresi linier IC₅₀ fraksi etil asetat



d. Fraksi n-heksana

- Replikasi 1

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,05	5	2,01	0,794	0,969	18,059	10,951
20,1	5	4,02	0,726	0,969	25,077	
40,2	5	8,04	0,59	0,969	39,112	
60,6	5	12,12	0,442	0,969	54,385	
80,8	5	16,16	0,306	0,969	68,421	
101	5	20,2	0,159	0,969	83,591	

- Replikasi 2

Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,15	5	2,03	0,779	0,969	19,607	10,767
20,3	5	4,06	0,702	0,969	27,554	
40,6	5	8,12	0,575	0,969	40,660	
60,9	5	12,18	0,417	0,969	56,965	
81,2	5	16,24	0,297	0,969	69,349	
101,5	5	20,3	0,134	0,969	86,171	
121,8	5	24,36	0,109	0,969	88,751	

- Replikasi 3

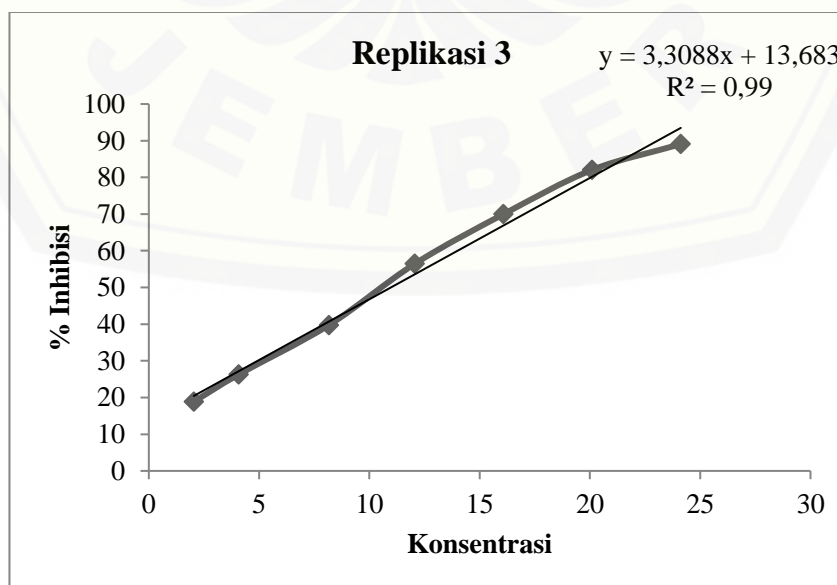
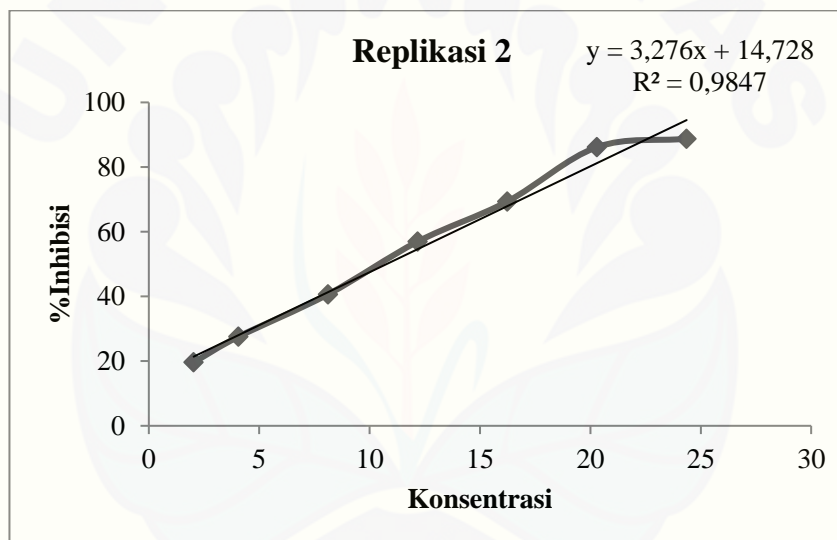
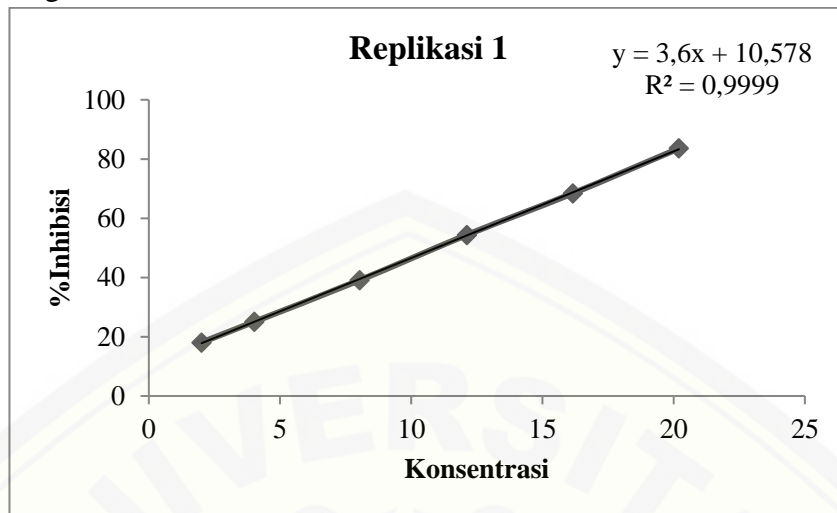
Konsentrasi	Faktor pengenceran	Konsentrasi dalam kuvet	Abs sampel	Abs DPPH	%inhibisi	IC ₅₀
10,2	5	2,04	0,786	0,969	18,88545	10,976
20,4	5	4,08	0,714	0,969	26,31579	
40,8	5	8,16	0,584	0,969	39,73168	
60,3	5	12,06	0,422	0,969	56,44995	
80,4	5	16,08	0,291	0,969	69,96904	
100,5	5	20,1	0,174	0,969	82,04334	
120,6	5	24,12	0,106	0,969	89,06089	

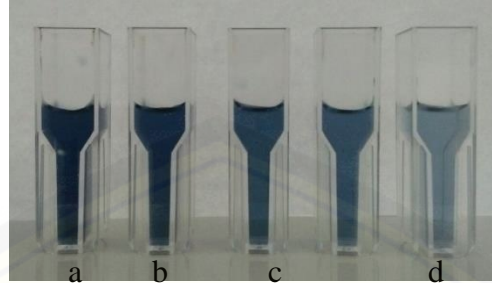
Rata-rata IC₅₀ = 10, 898 µg/mL

SD = 0,114

RSD = 1,047%

- Regresi linier fraksi n-heksana



Lampiran 4.8 Gambar Pengujian Kadar Fenol Total

Keterangan : Pengujian Kadar Fenol Total; (a) 8,28 $\mu\text{g/mL}$ (b) 6,06 $\mu\text{g/mL}$

(c) 5,18 $\mu\text{g/mL}$ (d) 4,14 $\mu\text{g/mL}$ (e) 2,07 $\mu\text{g/mL}$

Lampiran 4.9 Pembuatan Reagen Folin-Ciocalteu dan Na₂CO₃ 7,5%

- a. Folin-Ciocalteu (1:10)

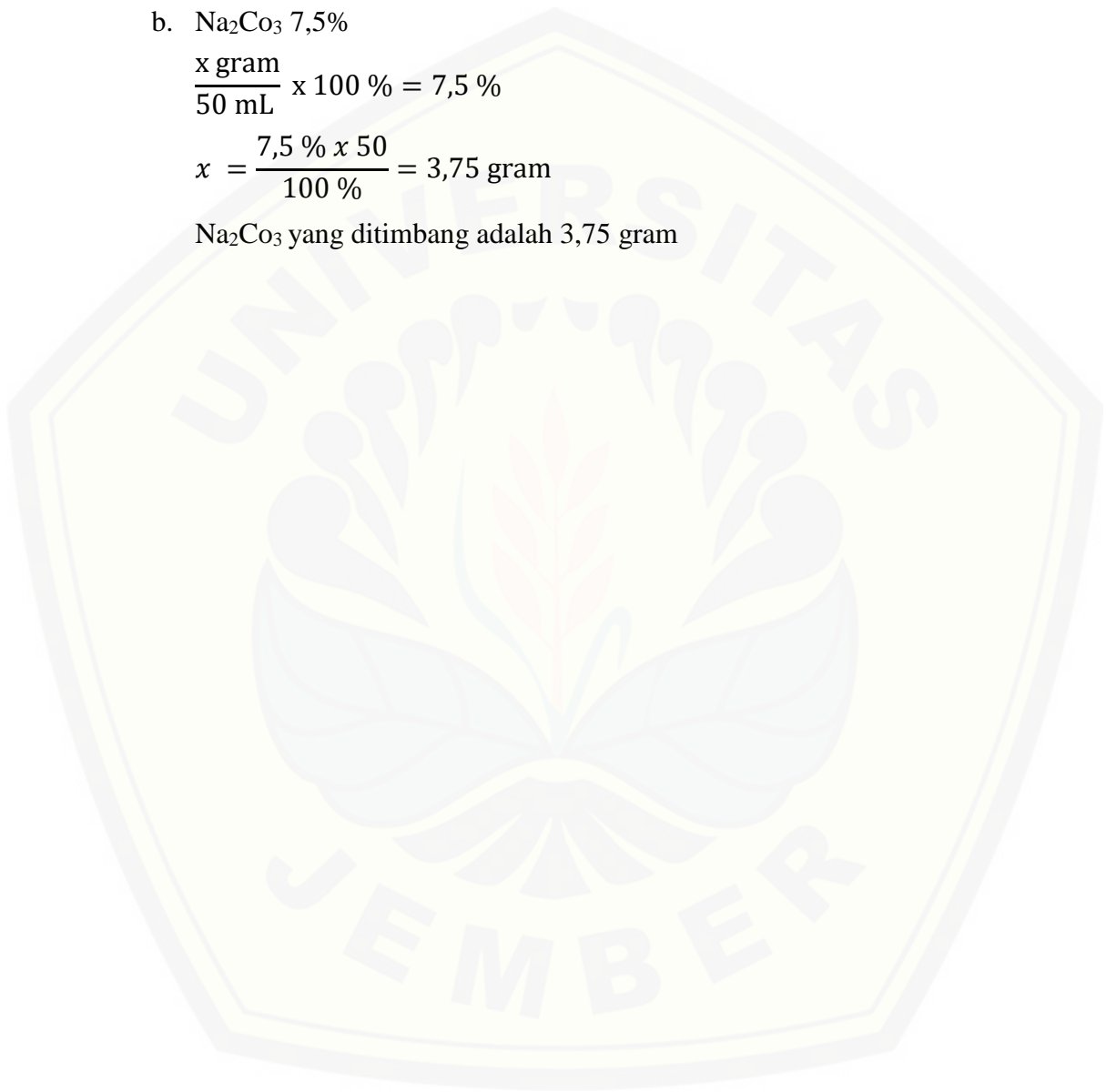
1 mL reagen ciocalteu dilarutkan dalam 10 mL akuades

- b. Na₂CO₃ 7,5%

$$\frac{x \text{ gram}}{50 \text{ mL}} \times 100 \% = 7,5 \%$$

$$x = \frac{7,5 \% \times 50}{100 \%} = 3,75 \text{ gram}$$

Na₂CO₃ yang ditimbang adalah 3,75 gram



Lampiran 4.10 Pembuatan Standar dan Larutan Uji

a. Pembuatan Standar Asam Galat

- Larutan induk 1 = $\frac{20,7 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 2070 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- Pengenceran = $\frac{1 \text{ mL}}{0,010 \text{ L}} \times 2070 \text{ } \mu\text{g/mL} = 207 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- Larutan induk 2 = $\frac{30,3 \text{ mg}}{0,010 \text{ L}} = 3030 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- Pengenceran = $\frac{1 \text{ mL}}{0,010 \text{ L}} \times 3030 \text{ } \mu\text{g/mL} = 303 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b. Pengenceran larutan induk

$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 207 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20,7 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 30,3 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 207 \text{ } \mu\text{g/mL} = 41,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$	$\frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 20,7 \text{ } \mu\text{g/mL} = 82,8 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{2,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 207 \text{ } \mu\text{g/mL} = 51,18 \text{ } \mu\text{g/mL}$	

c. Pembuatan larutan uji

- Fraksi air
 1. $\frac{20,4 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2040 \text{ } \mu\text{g/mL}$
Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2040 \text{ } \mu\text{g/mL} = 204 \text{ } \mu\text{g/mL}$
 2. $\frac{20,0 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL}$
Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$
 3. $\frac{20,4 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2040 \text{ } \mu\text{g/mL}$
Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2040 \text{ } \mu\text{g/mL} = 204 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- Fraksi etil asetat
 1. $\frac{20,2 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2020 \text{ } \mu\text{g/mL}$
Diencerkan $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 202 \text{ } \mu\text{g/mL}$
Diencerkan $\frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 202 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$

$$2. \frac{20,3 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2030 \text{ } \mu\text{g/mL} = 203 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 203 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$3. \frac{20,5 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2050 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2050 \text{ } \mu\text{g/mL} = 205 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 205 \text{ } \mu\text{g/mL} = 41,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

- Fraksi n-heksana

$$1. \frac{20,3 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2030 \text{ } \mu\text{g/mL} = 101,5 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$2. \frac{20,2 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2020 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2020 \text{ } \mu\text{g/mL} = 101 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

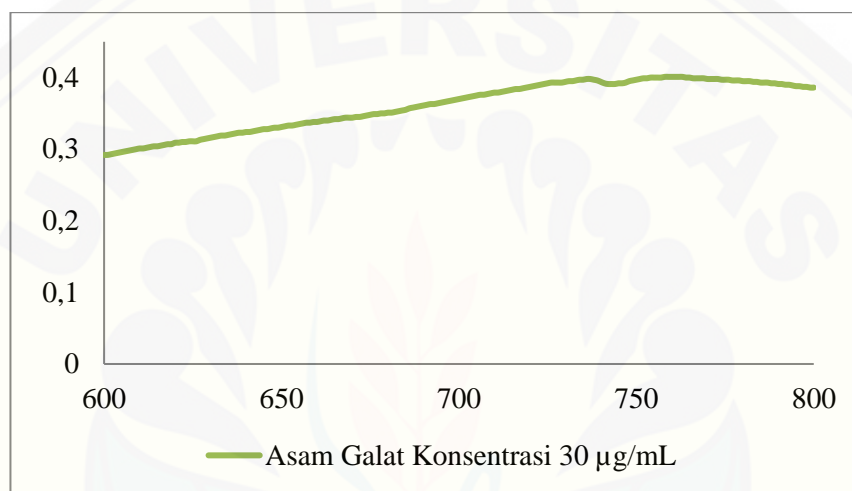
$$3. \frac{20,6 \text{ mg}}{0,001 \text{ L}} = 2060 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Diencerkan } \frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2060 \text{ } \mu\text{g/mL} = 203 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 4.11 Penentuan Panjang Gelombang

a. Grafik

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



Keterangan : Spektra panjang gelombang maksimum asam galat terpilih (737 nm)

b. Data Absorbansi

Panjang Gelombang	Abs	Panjang Gelombang	Abs	Panjang Gelombang	Abs
770	0,398	747	0,393	723	0,39
769	0,399	746	0,392	722	0,389
768	0,399	745	0,392	721	0,388
767	0,399	744	0,391	720	0,387
766	0,399	743	0,391	719	0,386
765	0,4	742	0,391	718	0,385
764	0,4	741	0,392	717	0,384
763	0,401	740	0,394	716	0,384
762	0,401	739	0,396	715	0,383
761	0,401	738	0,397	714	0,382
760	0,401	737	0,398	713	0,381
759	0,401	736	0,398	712	0,38
758	0,401	735	0,397	711	0,379
757	0,4	734	0,397	710	0,379
756	0,4	733	0,396	709	0,378
755	0,4	732	0,395	708	0,377
754	0,4	731	0,395	707	0,376
753	0,399	730	0,394	706	0,376
752	0,399	729	0,393	705	0,375
751	0,398	728	0,393	704	0,374
750	0,397	727	0,393	703	0,373
749	0,396	726	0,393	702	0,372
748	0,395	725	0,392	701	0,371
		724	0,391	700	0,37

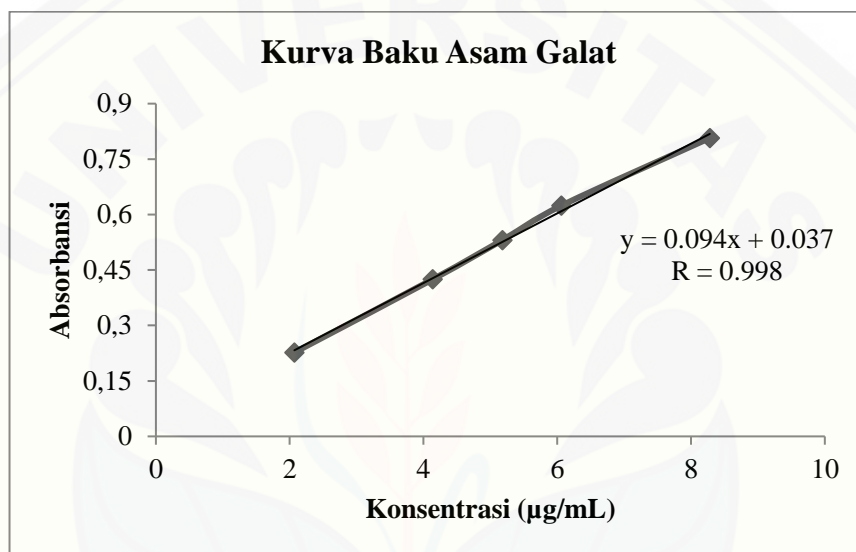
Lampiran 4.12 Pengukuran Kadar Fenol Total

a. Hasil pengukuran kadar fenol total

Sampel	Kadar mg GAE/g Fraksi	Rata-rata (mg GAE/g Fraksi)	SD	RSD (%)
Fraksi air	9.46	$\bar{x} = \frac{9,46 + 9,30 + 9,51}{3}$ $= 9,42$	$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 (xi - \bar{x})^2}{3 - 1}}$ $= 0,11$	$\%RSD = \frac{0,11}{9,42} \times 100\%$ $= 1,16$
	9.3			
	9.51			
Fraksi etil asetat	66.88	67,40	0,55	0,82
	67.34			
	67.98			
Fraksi n- heksana	21.07	21,35	0,40	1,86
	21.80			
	21.17			

b. Kurva baku standar asam galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Faktor pengenceran	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
20,7	10	2,07	0.227
41,4	10	4,14	0.425
51,8	10	5,18	0.531
60,6	10	6,06	0.624
82,8	10	8,28	0.807



c. Perhitungan kadar fenol total sampel

- Fraksi air

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/mL)	Konsentrasi dalam 10 mL (mg/mL)	Massa dalam 10 mL (mg)	Kadar mgGAE/g Fraksi
20.4	0,218	1,93	193	1.93	9.46
20	0,212	1,86	186	1.86	9.3
20.4	0,219	1,94	194	1.94	9.51

Rata-rata = 9,42 mg GAE/g Fraksi

SD = 0,11

CV = 1,16 %

- Fraksi etil asetat

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/mL)	Konsentrasi dalam 10 mL (mg/mL)	Massa dalam 10 mL (mg)	Kadar mgGAE/g Fraksi
20.2	0.291	2.70	1351.06	13.51	66.88
20.3	0.294	2.73	1367.02	13.67	67.34
20.5	0.299	2.79	1393.62	13.94	67.98

Rata-rata IC_{50} = 67,4 mg GAE/g Fraksi

SD = 0,55

CV = 0,82 %

- Fraksi n-heksana

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/mL)	Konsentrasi dalam 10 mL (mg/mL)	Massa dalam 10 mL (mg)	Kadar mgGAE/g Fraksi
20.3	0.238	2.14	427.66	4.28	21.07
20.2	0.244	2.20	440.43	4.40	21.80
20.6	0.242	2.18	436.17	4.36	21.17

Rata-rata IC_{50} = 21,35 mg GAE/g Fraksi

SD = 0,40

CV = 1,86%

Lampiran 4. 13 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC₅₀)

	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC ₅₀	Fraksi A	,188	3	.	,998	3	,911
	Fraksi E	,293	3	.	,922	3	,458
	Fraksi N	,342	3	.	,845	3	,227
	Vit C	,331	3	.	,865	3	,281

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Jumlah kelompok uji <50, maka yang dilihat adalah hasil *Test of Normality Shapiro-Wilk*. Nilai kemaknaan yang diperoleh >0,01. Ini menunjukkan bahwa distribusi data normal.

Test of Homogeneity of Variances

IC₅₀

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,920	3	8	,100

Keterangan : *Significancy Test homogeneity* menunjukkan angka 0,100 ($p > 0,01$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok uji yang dibandingkan dengan kata lain “variens data sama atau data homogen”

ANOVA

IC₅₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1163,900	3	387,967	21936,682	,000
Within Groups	,141	8	,018		
Total	1164,042	11			

Keterangan : Nilai p yang diperoleh adalah 0,000 ($p < 0,01$) yang artinya “ada perbedaan yang bermakna pada nilai IC₅₀ pada 3 kelompok fraksi”

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-25,557122*	,108626	,000	-25,92160	-25,19264
	3	-3,499922*	,108626	,000	-3,86440	-3,13544
	4	-7,378434*	,108626	,000	-7,74292	-7,01395
2	1	25,557122*	,108626	,000	25,19264	25,92160
	3	22,057200*	,108626	,000	21,69272	22,42168
	4	18,178687*	,108626	,000	17,81421	18,54317
3	1	3,499922*	,108626	,000	3,13544	3,86440
	2	-22,057200*	,108626	,000	-22,42168	-21,69272
	4	-3,878512*	,108626	,000	-4,24299	-3,51403
4	1	7,378434*	,108626	,000	7,01395	7,74292
	2	-18,178687*	,108626	,000	-18,54317	-17,81421
	3	3,878512*	,108626	,000	3,51403	4,24299

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

Keterangan : Kelompok 1 (vitamin C), 2 (fraksi air), 3 (fraksi etil asetat) dan 4 (fraksi n-heksana). Semua nilai p yang diperoleh 0,000 ($p < 0,01$). Maka perbedaan IC_{50} berbeda secara bermakna pada semua kelompok fraksi.

Lampiran 4.14 Hasil analisis varian (ANOVA) Fenol total (mg GAE/g Fraksi)

		Tests of Normality					
Sampel		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
fenol	Fraksi A	,298	3	.	,916	3	,439
	Fraksi E	,210	3	.	,991	3	,820
	Fraksi N	,339	3	.	,851	3	,242

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Jumlah kelompok uji <50, maka yang dilihat adalah hasil *Test of Normality Shapiro-Wilk*. Nilai kemaknaan yang diperoleh >0,01. Ini menunjukkan bahwa distribusi data normal.

Test of Homogeneity of Variances

fenol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,170	2	6	,195

Keterangan : *Significancy Test homogeneity* menunjukkan angka 0,100 ($p > 0,01$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok uji yang dibandingkan dengan kata lain “variens data sama atau data homogen”

ANOVA

Fenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5624,369	2	2812,185	17803,645	,000
Within Groups	,948	6	,158		
Total	5625,317	8			

Keterangan : Nilai p yang diperoleh adalah 0,000 ($p < 0,01$) yang artinya “ada perbedaan yang bermakna pada nilai fenol total pada 3 kelompok fraksi”

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Fenol

LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-57,976667*	,324505	,000	-59,17975	-56,77359
	3	-11,923333*	,324505	,000	-13,12641	-10,72025
2	1	57,976667*	,324505	,000	56,77359	59,17975
	3	46,053333*	,324505	,000	44,85025	47,25641
3	1	11,923333*	,324505	,000	10,72025	13,12641
	2	-46,053333*	,324505	,000	-47,25641	-44,85025

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

Keterangan : Kelompok 1(fraksi air), 2 (fraksi etil asetat) dan 3 (fraksi n-heksana). Semua nilai p yang diperoleh 0,000 ($p < 0,01$).

Maka perbedaan fenol total berbeda secara bermakna pada semua kelompok fraksi

Lampiran 4.15 Hasil analisis korelasi pearson kadar fenol dan kadar flavonoid dengan aktivitas antioksidan

		IC50	Fenol
IC50	Pearson Correlation	1	-,774*
	Sig. (2-tailed)		,014
	N	9	9
Fenol	Pearson Correlation	-,774*	1
	Sig. (2-tailed)	,014	
	N	9	9

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Keterangan : Data di atas didapat nilai *sig* 0,014 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa korelasi antara nilai IC50 dan fenol total adalah bermakna. Nilai negatif menunjukkan bahwa semakin tinggi fenol total maka semakin kecil nilai IC₅₀

$$r = -0,774$$

$$r^2 = 0,59908$$

$$\% = 59,908\%$$

Hasil ini menunjukkan bahwa 59,908 % aktivitas antioksidan buah merah merupakan hasil kontribusi dari senyawa-senyawa fenolik.

