



**SKRINING FITOKIMIA, PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL  
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN BENALU (*Dendrophthoe pentandra* L.)  
PADA INANG MANGGA**

**SKRIPSI**

Oleh

**Muhammad Ridlo  
NIM 132210101038**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**SKRINING FITOKIMIA, PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL  
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN BENALU (*Dendrophthoe pentandra* L.)  
PADA INANG MANGGA**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Muhammad Ridlo  
NIM 132210101038**

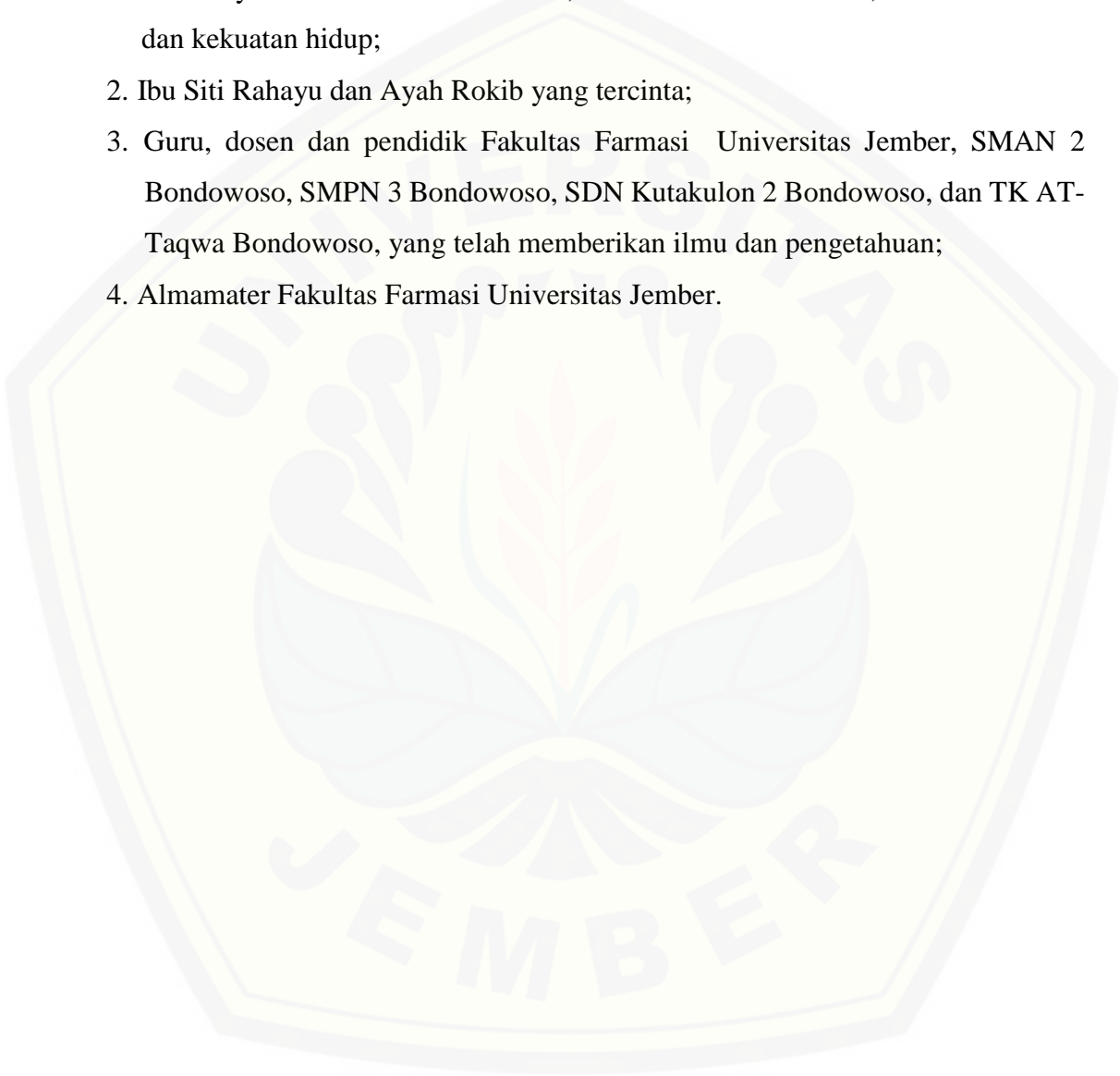
**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

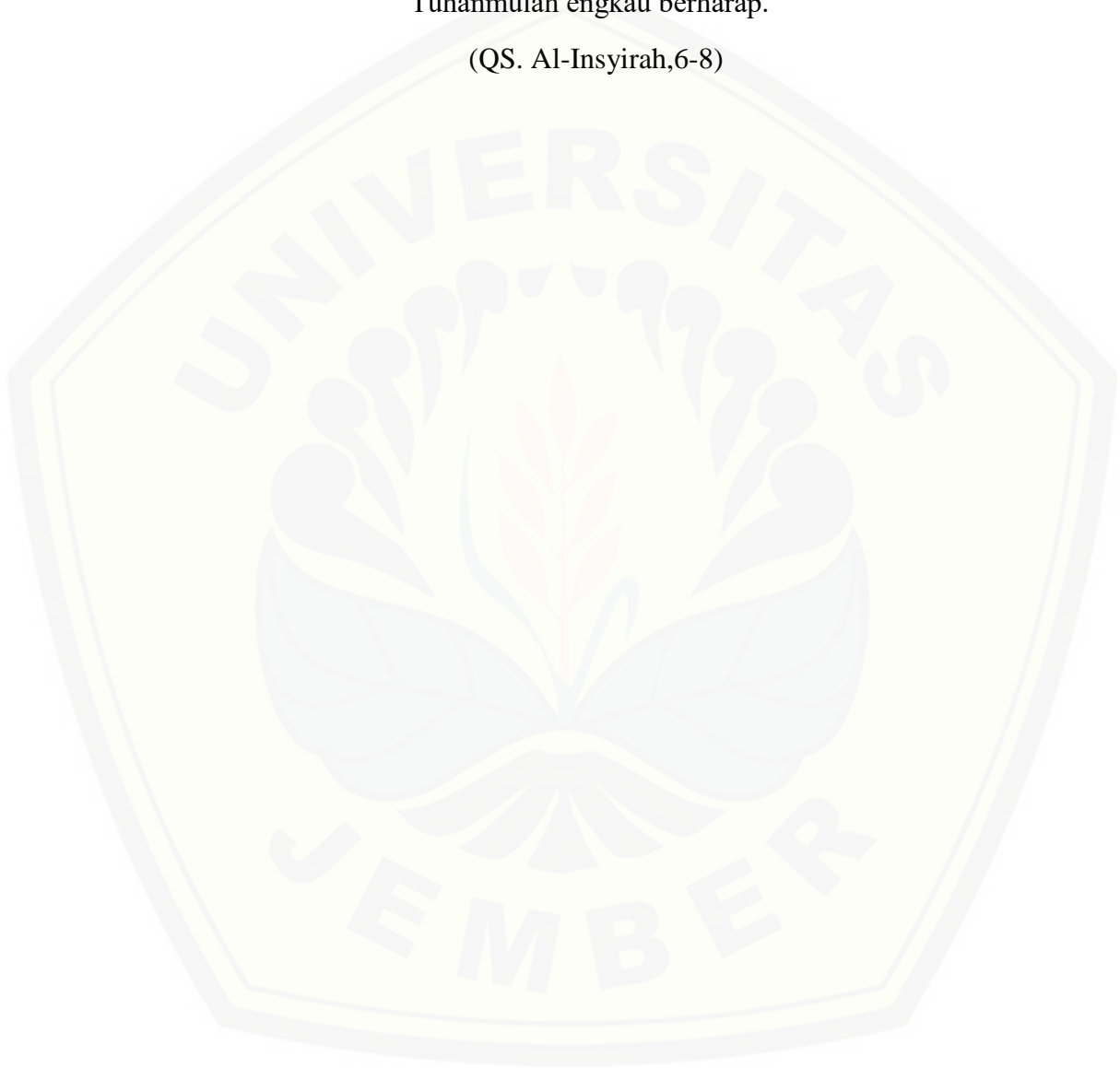
1. Allah SWT. yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan, memberikan kelancaran, memberikan arti dan kekuatan hidup;
2. Ibu Siti Rahayu dan Ayah Rokib yang tercinta;
3. Guru, dosen dan pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMAN 2 Bondowoso, SMPN 3 Bondowoso, SDN Kutakulon 2 Bondowoso, dan TK AT-Taqwa Bondowoso, yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



**MOTTO**

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

(QS. Al-Insyirah,6-8)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Muhammad Ridlo

NIM : 132210101038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining Fitokimia, Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* L.) Pada Inang Mangga” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember,

Yang menyatakan,

Muhammad Ridlo

NIM 132210101038

**SKRIPSI**

**SKRINING FITOKIMIA, PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL  
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN BENALU (*Dendrophthoe pentandra* L.)  
PADA INANG MANGGA**

Oleh

Muhammad Ridlo

NIM 132210101038

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Skrining Fitokimia, Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* L.) Pada Inang Mangga” karya Muhammad Ridlo telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 08 Januari 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**Tim Penguji:**

Ketua,

Anggota I,

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt, M.Farm.  
NIP 198204062006042002

Indah Yulia N., S.Farm, Apt., M.Farm.  
NIP 198407122008122002

Anggota II,

Anggota III,

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., Apt., M.Sc.  
NIP 198504282009121004

Indah Purnama Sary, S.Si., Apt., M.Farm.  
NIP 198304282008122004

Mengesahkan  
Dekan,

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

## RINGKASAN

**Skrining Fitokimia, Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra L.*) Pada Inang Mangga;** Muhammad Ridlo; 132210101038; 97 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit degeneratif telah menjadi penyebab kematian terbesar di dunia, bahkan di Indonesia telah terjadi peningkatan penyakit degeneratif tiap tahunnya. Salah satu faktor penyebab penyakit degeneratif adalah radikal bebas dan stres oksidatif yang dapat merusak tubuh. Untuk mengatasi ketidakseimbangan dan akumulasi radikal bebas dalam tubuh, diperlukan senyawa antioksidan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah benalu (*Dendrophthoe pentandra L.*). Berbagai aktivitas dari benalu dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang terkandung di dalam inangnya. Pada penelitian ini digunakan *Dendrophthoe pentandra L* pada inang mangga dengan varietas berbeda yaitu manalagi, arummanis, dan gadung, yang diduga memiliki aktivitas antioksidan karena mangga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadungan golongan senyawa, kadar fenol total dan aktivitas antioksidan dari *Dendrophthoe pentandra L* pada inang mangga dengan varietas berbeda yaitu manalagi, arummanis, dan gadung. Kadar fenol total diukur dengan metode Follin-Ciocalteu, yaitu dengan cara mereaksikan sampel atau standar asam galat dengan FolinCiocalteu (1:10) dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 737 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode penangkapan radikal bebas dengan DPPH, yaitu dengan cara mereaksikan larutan DPPH dengan sampel atau pembanding vitamin C yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis dan gadung, menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan polifenol, namun senyawa tanin hanya ditemukan dalam ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang mangga gadung. Hasil kadar fenol total yang didapat dari ekstrak etanol daun benalu mangga gadung, arummanis, dan manalagi berturut-turut yaitu  $358,203 \pm 4,445$  mg GAE/g;  $282,869 \pm 3,440$  GAE/g; dan  $237,314 \pm 4,438$  GAE/g. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan dari vitamin C, ekstrak etanol daun benalu mangga gadung, arummanis, dan manalagi berturut-turut yaitu  $3,461 \pm 0,068$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $6,558 \pm 0,052$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $10,120 \pm 0,069$   $\mu\text{g/ml}$ ; dan  $10,893 \pm 0,105$ . Ekstrak etanol benalu pada inang mangga gadung memiliki aktivitas antioksidan dan kadar fenol total tertinggi pada penelitian ini. Hasil analisis aktivitas antioksidan dan kadar fenol total pada sampel menunjukkan nilai  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan dan kadar fenol total pada sampel. Kadar fenol total dan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menunjukkan korelasi positif dan signifikan.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Skrining Fitokimia, Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* L.) Pada Inang Mangga”. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. Allah SWT. yang telah memberikan karunia kehidupan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt selaku Dosen Pembimbing Utama, dan bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Ibu Indah Yulia N,S.Farm, M.Farm., Apt dan ibu Indah Purnama Sary, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk menguji skripsi ini dan memberikan masukan serta saran untuk perkembangan diri penulis dan skripsi ini;
5. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing dalam masalah perkuliahan penulis;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi;
7. Keluarga besar Farmasetamol FFUJ Angkatan 2013 atas kekeluargaan, persaudaraan, dan kebersamaan selama ini;

8. Para orang terdekat saya (Keluarga BEMF, Koboï Kampus, A2K, Farmakologi) dan teman spesial Nila Lutfiatul Khoïroh untuk semangat dan kebersamaannya dalam senang maupun susah
9. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang turut berbahagia atas keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;

Tentunya sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya baik bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, 15 Januari 2018

Penulis

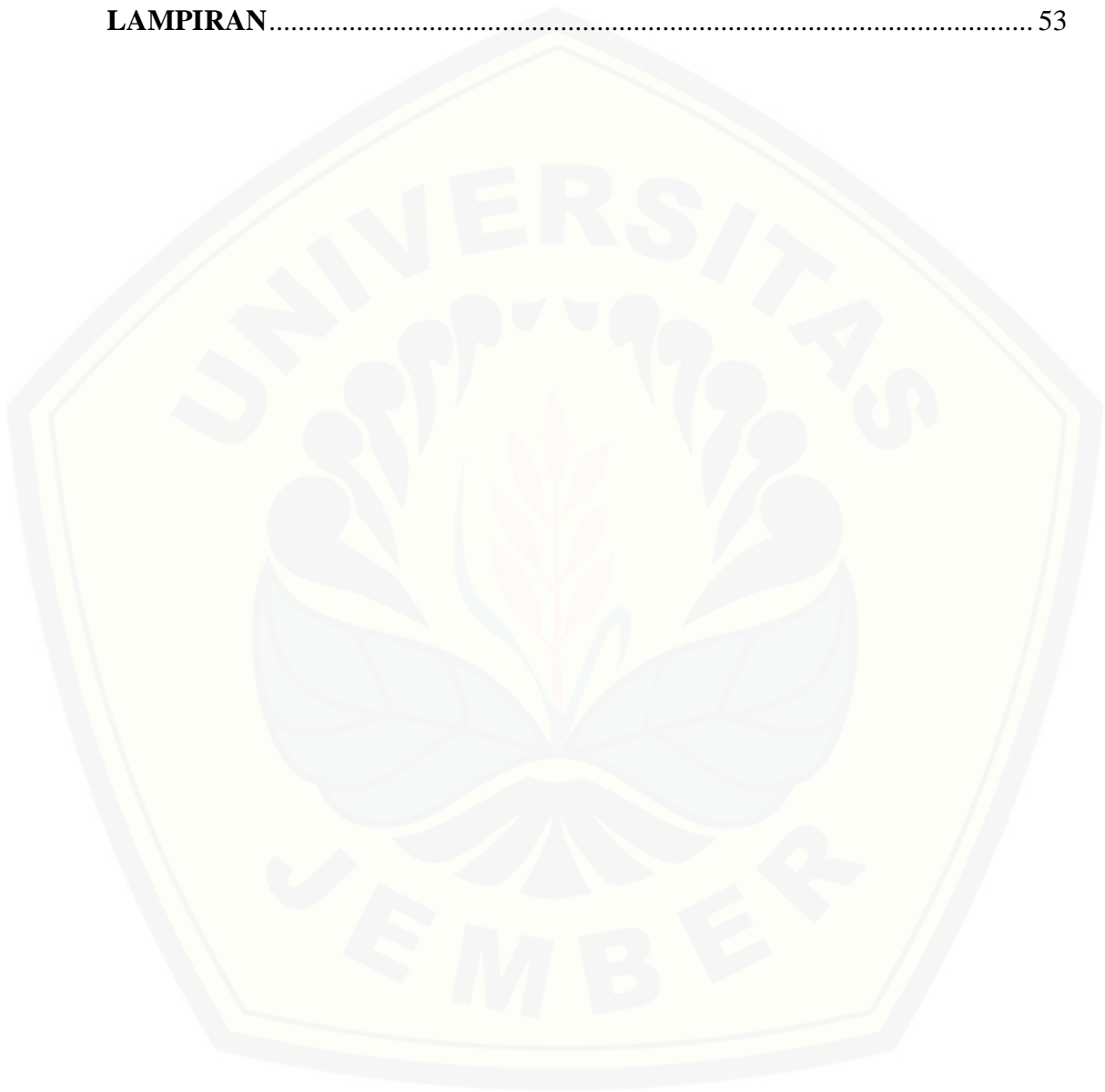
**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>DAFTAR JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>HALAMAN RINGKASAN</b> .....	viii
<b>HALAMAN PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR RUMUS</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>1.5 Batasan Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Tinjauan tentang <i>Dendrophoe pentandra L.</i></b> .....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Nama Daerah .....	6
2.1.3 Deskripsi .....	6
2.1.4 Kandungan Kimia .....	8
2.1.5 Penelitian tentang <i>D. Pentandra</i> .....	8
<b>2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi</b> .....	9
<b>2.3 Tinjauan tentang Skrining Fitokimia</b> .....	11
<b>2.4 Tinjauan tentang Antioksidan</b> .....	15

2.3.1 Definisi.....	15
2.3.2 Mekanisme.....	15
2.3.3 Sumber Antioksidan .....	16
<b>2.5 Tinjauan Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan <i>in vitro</i> .....</b>	<b>17</b>
2.5.1 Metode Dena Terkonjugasi.....	17
2.5.2 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).....	17
2.5.3 Metode Aktivitas Peredaman Radikal Superosida.....	18
2.5.4 Metode Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil .....	18
2.5.5 Metode Aktivitas Penghambatan Radikal Nitrat Oksidan.....	18
2.5.6 Metode Kekuatan Pereduksi .....	19
2.5.7 Metode Fosfomolibdenum.....	19
2.5.8 Metode ABTS (garam 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonikacid) diamonium).....	19
2.5.9 Metode Kapasitas Serapan Radikal Oksigen (ORAC) .....	19
2.5.10 Metode Model Linoleat $\beta$ -karoten .....	20
2.5.11 Metode Metode FRAP .....	20
2.5.12 Metode Lipid Peroksidasi Mikrosomal atau Uji Asam Tiobarbiturat.....	20
<b>2.6 Tinjauan tentang Senyawa Fenol .....</b>	<b>22</b>
<b>2.7 Tinjauan Metode Penetapan Kadar Fenol Total dengan pereaksi Folin-Ciocalteu.....</b>	<b>24</b>
2.7.1 Metode Folin-Denis (FD) .....	24
2.7.2 Metode Folin-Ciocalteu (FC) .....	24
2.7.3 Metode Lowenthal-Procter.....	24
2.7.4 Metode Kolorimetri .....	24
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Populasi dan Sampel.....</b>	<b>26</b>
3.3.1 Populasi.....	26
3.3.2 Sampel.....	26

<b>3.4 Alat dan Bahan</b> .....	26
3.4.1 Alat .....	26
3.4.2 Bahan .....	27
<b>3.5 Rancangan Penelitian</b> .....	27
<b>3.6 Variabel Penelitian</b> .....	28
3.6.1 Variabel Bebas.....	28
3.6.2 Variabel Terikat .....	28
3.6.3 Variabel Terkendali .....	28
<b>3.7 Definisi Operasional</b> .....	28
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	29
3.8.1 Pengumpulan Sampel.....	29
3.8.2 Determinasi Tanaman .....	29
3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis, Manalagi, dan Gadung.....	29
3.8.4 Skrining Fitokimia.....	30
3.8.5 Penetapan Kadar Fenol Total.....	31
3.8.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH.....	33
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	36
<b>4.1 Pembuatan Ekstrak</b> .....	36
<b>4.2 Skrining Fitokima</b> .....	37
<b>4.3 Penetapan Kadar Fenol Total</b> .....	39
4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Analisis.....	39
4.3.2 Penentuan Waktu Inkubasi .....	40
4.3.3 Penentuan Kadar .....	40
<b>4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan</b> .....	41
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	41
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi.....	42
4.4.3 Penetapan Aktivitas Antioksidan .....	43

<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	46
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	46
<b>5.2 Saran</b> .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	47
<b>LAMPIRAN</b> .....	53

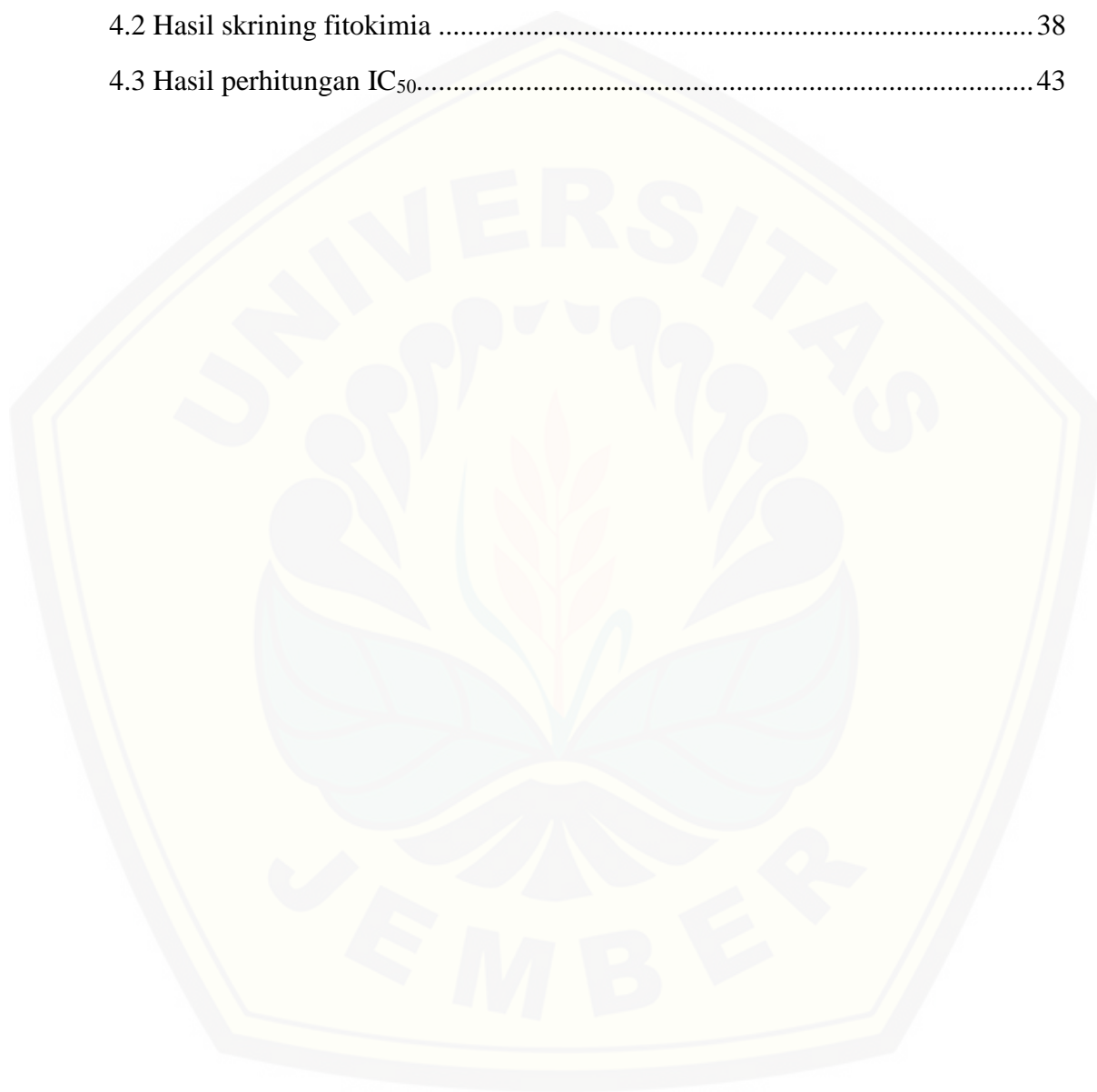


**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Morfologi <i>D. pentandra</i> (Linnaeus) Miquel .....	7
2.2 Struktur lupanine .....	13
2.3 Struktur flavonol .....	13
2.4 Struktur katekin .....	14
2.5 Struktur timol .....	14
2.6 Struktur steroidal saponin .....	15
2.7 Cara kerja antioksidan .....	15
2.8 Prinsip kerja antioksidan dalam menghambat fotooksidasi pada lemak .....	16
2.9 Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH .....	16
2.10 Stuktur fenol .....	22
3.1 Alur rancangan penelitian .....	27
4.1 Spektra panjang gelombang serapan maksimum asam galat .....	39
4.2 Hasil kadar fenol total masing-masing sampel .....	41
4.3 Spektra panjang gelombang serapan maksimum DPPH .....	42
4.4 Waktu inkubasi ekstrak .....	43
4.5 Kurva hubungan antara IC <sub>50</sub> dengan fenol total .....	44
4.6 Ekstrak etanol benalu mangga .....	56
4.7 Larutan uji DPPH .....	59
4.8 Waktu inkubasi vitamin C metode DPPH .....	65
4.9 Waktu inkubasi benalu mangga manalagi metode DPPH .....	66
4.10 Waktu inkubasi benalu mangga arummanis metode DPPH .....	67
4.11 Waktu inkubasi benalu mangga gadung metode DPPH .....	68
4.12 Larutan uji kadar fenol total .....	78
4.13 Waktu inkubasi asam galat penetapan fenol total .....	82
4.14 Waktu inkubasi benalu mangga manalagi penetapan fenol total .....	83
4.15 Waktu inkubasi benalu mangga arummanis penetapan fenol total .....	84
4.16 Waktu inkubasi benalu mangga gadung penetapan fenol total .....	85

**DAFTAR TABEL**

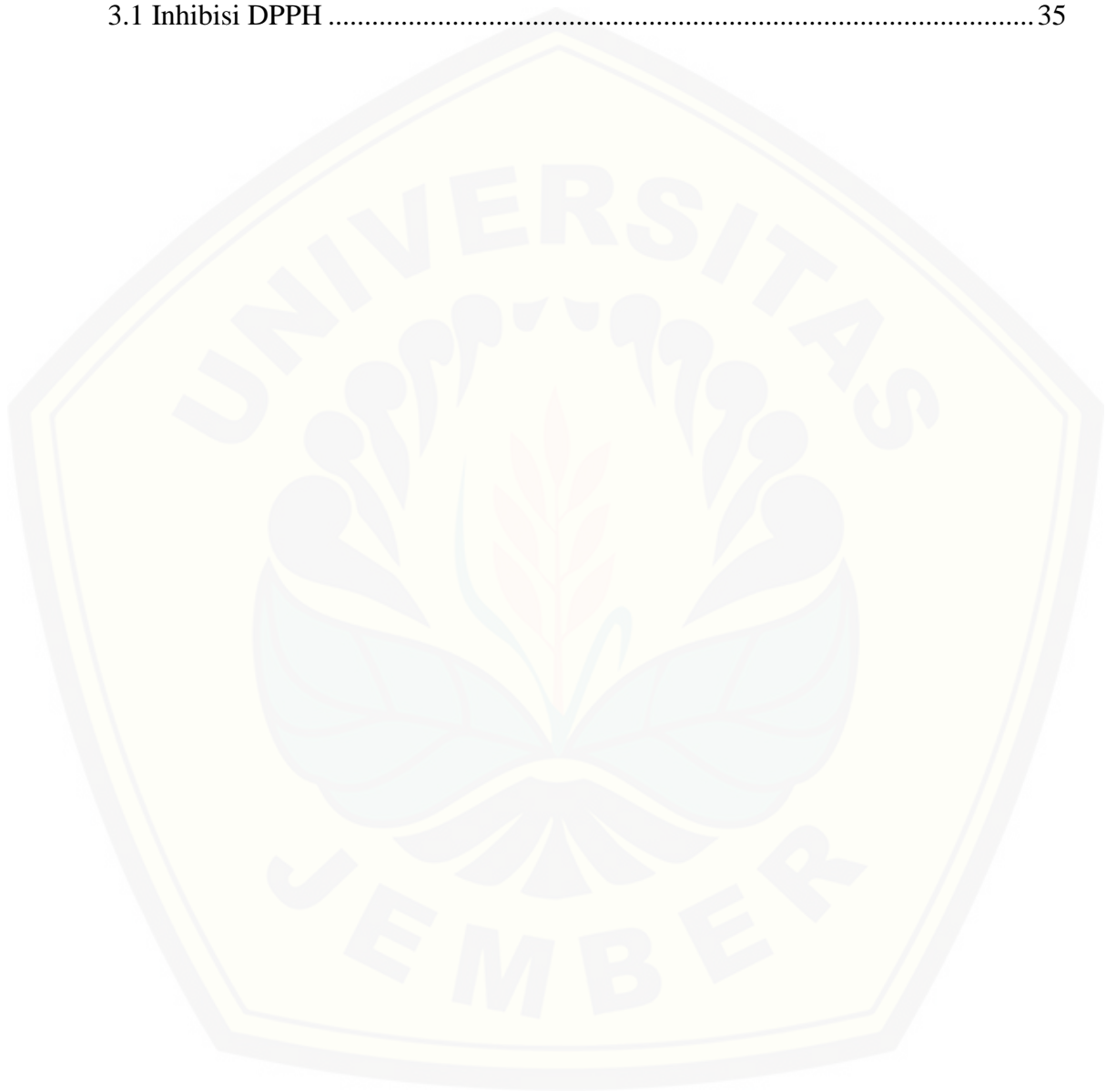
	Halaman
3.1 Golongan senyawa fenol .....	22
4.2 Hasil skrining fitokimia .....	38
4.3 Hasil perhitungan IC <sub>50</sub> .....	43





**DAFTAR RUMUS**

	Halaman
3.1 Inhibisi DPPH .....	35



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Lembar determinasi.....	54
4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak .....	56
4.3 Hasil Skrining Fitokimia.....	57
4.4 Perhitungan DPPH dan Larutan Uji.....	59
4.5 Penentuan panjang gelombang DPPH .....	65
4.6 Penentuan waktu inkubasi uji IC <sub>50</sub> .....	66
4.7 Perhitungan peredaman DPPH dan IC <sub>50</sub> .....	70
4.8 Pembuatan standar asam galat dan larutan uji fenol total .....	79
4.9 Penentuan panjang gelombang penetapan kadar fenol total .....	82
4.10 Penentuan waktu inkubasi uji fenol total .....	83
4.11 Pengukuran kadar fenol total .....	87
4.12 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC <sub>50</sub> ).....	89
4.13 Hasil analisis varian (ANOVA) fenol total.....	91

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif telah menjadi penyebab kematian terbesar di dunia, bahkan di Indonesia telah terjadi peningkatan penyakit degeneratif tiap tahunnya. Salah satu faktor penyebab terjadinya penyakit degeneratif adalah kebiasaan yang tidak sehat seperti merokok, mengonsumsi minuman alkohol, pola makan yang tidak sehat, aktifitas fisik yang kurang, dan pencemaran lingkungan yang dapat merangsang timbulnya radikal bebas dan stres oksidatif yang dapat merusak tubuh (Handajani & Adianti, 2010). Radikal bebas merupakan suatu zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan termasuk diantaranya atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen (Gitawati, 1995; Connor *et al.*, 2002). Radikal bebas berperan dalam kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup (Velazquez *et al.*, 2003). Produksi radikal bebas yang tidak terkendali di dalam tubuh, dapat mengoksidasi dan merusak komponen-komponen vital, seperti lapisan lipid dalam membran sel dan makromolekul-makromolekul seperti DNA. Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid atau DNA dan dapat memulai penyakit degeneratif (Prakash *et al.*, 2001).

Untuk mengatasi ketidakseimbangan dan akumulasi radikal bebas dalam tubuh, diperlukan senyawa untuk menetralkan dan mengimbangi kelebihan jumlah radikal bebas, senyawa tersebut dikenal sebagai antioksidan. Antioksidan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan Spesies Oksigen Reaktif (SOR), mampu menghambat penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam) dan antioksidan buatan/sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) (Prabantini, 2010). Sumber antioksidan alami lebih dipilih karena, berdasarkan penelitian Grice (1986), antioksidan sintesis seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA) dan Butil Hidroksi Toluena (BHT) dapat menimbulkan efek karsinogenik dan merugikan lainnya pada paru-paru maupun hati.

Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan diantaranya adalah vitamin C, betakaroten, vitamin E, flavonoid, dan senyawa fenolik (Kumalaningsih, 2006). Senyawa fenolik banyak terkandung dalam tanaman, seperti pada buah, sayuran, kulit buah, batang tanaman, daun, biji dan bunga (Harborne, 1993). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah benalu (*Dendrophthoe pentandra* L.). Benalu dikenal sebagai tumbuhan semiparasit dengan beragam spesies yang dapat tumbuh pada beragam cabang-cabang pohon meranggas yang tersebar luas di dunia (Watson, 2001). Bagian benalu yang sering digunakan sebagai obat alam oleh masyarakat adalah bagian daun benalu (Djoko, 1997). Tanaman benalu secara empirik digunakan sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Pemakaian benalu bersama beberapa bahan lain juga berkhasiat dalam pengobatan kanker, amandel, dan penyakit campak (Thomas, 1989). Penelitian ekstrak *D. pentandra* pada inang yang berbeda telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antikanker, imunomodulator, antiplasmodium, dan antibakteri (Rahmi *et al.*, 2011; Nur *et al.*, 2013; Bulan *et al.*, 2016). Artanti *et al.* (2006) menyatakan bahwa senyawa aktif ekstrak etanol *D. pentandra* pada inang belimbing (*Averrhoa carambola*) yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah flavonol glikosida dan kuersitrin. Penelitian selanjutnya oleh Bulan *et al.* (2016) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari flavonoid total daun benalu *D. pentandra* dari pohon glodokan (*Polialthia longifolia*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba benalu mangga *D. pentandra* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berbagai aktivitas dari benalu dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang terkandung di dalam inangnya, hal ini dikarenakan benalu memperoleh nutrisi dan senyawa untuk pertahanan dari inang benalu tersebut (Adler, 2002).

Benalu mangga *D. pentandra* merupakan salah satu benalu yang mudah didapat di Indonesia karena wilayah Indonesia sebagian besar adalah dataran rendah yang sesuai sebagai habitat pohon mangga (Nurfaat *et al.*, 2016). Mangga (*Mangifera indica* L.) sebagai inang benalu diketahui mengandung vitamin C, vitamin E, karotenoid, dan fenolik yang dapat beraktivitas sebagai antioksidan dan

antikanker payudara pada tikus (Garcia-Solis *et al.*, 2008). Bagian dari benalu yang berkhasiat sebagai tanaman obat adalah bagian daun benalu, seperti pada benalu teh, mangga, dan duku (Djoko, 1997; Indrawati, 1999). Skrining fitokimia benalu mangga mengandung senyawa flavonoid kuersetin, polifenol, saponin, dan tanin (Nunung *et al.*, 2015).

Tanaman benalu yang digunakan pada penelitian ini adalah benalu yang tumbuh pada inang mangga varietas manalagi, arummanis, dan gadung yang dapat ditemukan di Kabupaten Situbondo, Jawa Timur. Benalu pada tanaman mangga varietas manalagi, arummanis, dan gadung diduga memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Daerah Situbondo merupakan dataran rendah yang sesuai bagi pohon mangga hidup dengan ketinggian antara 0–300 m dpl (Broto *et al.* 1994), dan berada di wilayah penghasil buah mangga terbesar di Indonesia dilihat dari hasil produksi tanaman buah mangga di Kabupaten Situbondo tahun 2014, hasil produksi total tanaman buah mangga varietas manalagi, arummanis, dan gadung di Kabupaten Situbondo mencapai 203.340 buah (Dinas Pertanian Tanaman Pangan, 2015). Peneliti tertarik untuk menentukan benalu pada inang mangga manakah yang memiliki kandungan antioksidan tertinggi.

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti akan melakukan penentuan senyawa fitokimia, kandungan fenol total, serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol benalu mangga varietas manalagi, arummanis, dan gadung. Penelitian skrining fitokimia, penetapan kadar fenol total, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga dapat memberikan gambaran dan landasan ilmiah untuk pengembangan tanaman obat daun benalu mangga varietas manalagi, arummanis, dan gadung sebagai sumber antioksidan.

## 1.2 Rumusan Masalah

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

- a. Apa saja golongan senyawa yang terdapat didalam ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung berdasarkan uji skrining fitokimia ?
- b. Berapa kadar fenol total ekstrak etanol daun benalu mangga *D. Pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung ?
- c. Berapa nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung menggunakan metode DPPH?
- d. Apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun benalu pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

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

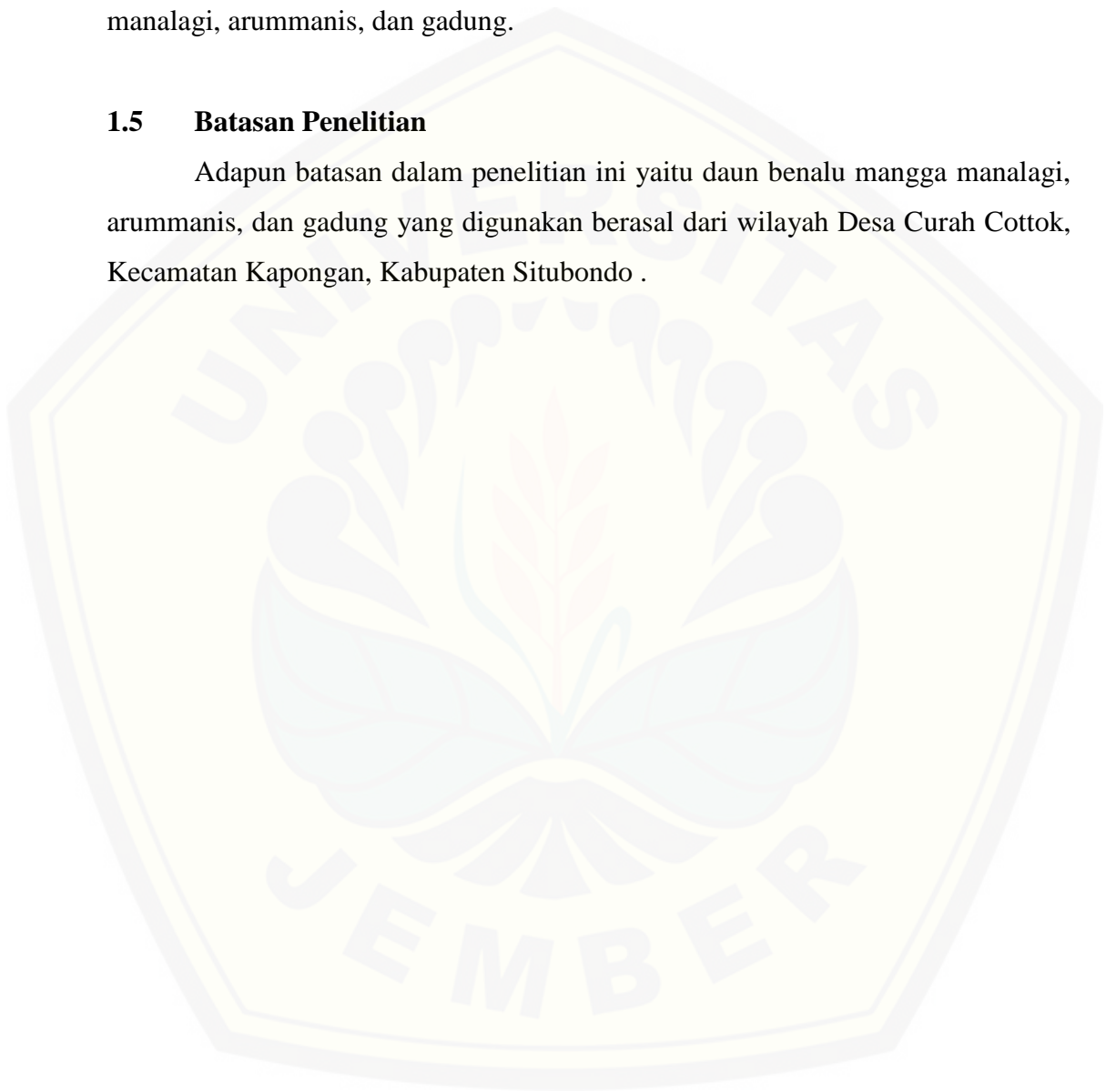
- a. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra* dengan uji skrining fitokimia.
- b. Untuk mengetahui jumlah kadar fenol total ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra*.
- c. Untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra*.
- d. Menentukan perbedaan aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun benalu mangga *D. pentandra*, kadar fenol total dan menentukan aktivitas antioksidan tertinggi pada inang mangga manalagi, arummanis, dan gadung.

#### **1.5 Batasan Penelitian**

Adapun batasan dalam penelitian ini yaitu daun benalu mangga manalagi, arummanis, dan gadung yang digunakan berasal dari wilayah Desa Curah Cottok, Kecamatan Kapongan, Kabupaten Situbondo .



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang *Dendrophthoe pentandra* L.

#### 2.1.1 Klasifikasi

Salah satu spesies benalu adalah *D. pentandra* atau dikenal sebagai benalu mangga, sistematika dan klasifikasi benalu mangga menurut Backer & Van Den Brink (1965) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Santalales
Famili	: Loranthaceae
Genus	: <i>Dendrophthoe</i>
Spesies	: <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L.) Miq.

#### 2.1.2 Nama Daerah

Setiap daerah memiliki nama yang berbeda-beda untuk tanaman ini. Di daerah Jawa, tanaman ini biasanya dikenal dengan nama Kamadean atau Kemlandean, sedangkan di Sunda dikenal sebagai Mangendeuy. Kebanyakan masyarakat Indonesia menyebutnya tanaman benalu (Van Steenis, 1975)

#### 2.1.3 Deskripsi

*D. pentandra* merupakan jenis benalu yang masuk dalam suku Loranthaceae. *D. pentandra* ditemukan di daerah hutan hujan atau di hutan yang terbuka, di perkebunan, di taman-taman kota, hingga di sekitar pemukiman penduduk. Penyebarannya terjadi melalui burung-burung pemakan bijinya. Kemampuan benalu ini tidak hanya menyerang jenis tumbuhan inang tertentu melainkan dapat memarasit berbagai jenis tumbuhan inang, baik berupa semak ataupun pohon, selama beberapa tahun. *D. pentandra* dapat hidup pada jenis-jenis tumbuhan yang beragam serta rentang sebaran ekologis yang cukup luas. Sebagai



jenis tumbuhan parasit keberadaan *D. pentandra* sering mengindikasikan terjadinya gangguan ataupun kerusakan tumbuh-tumbuhan inangnya, terlebih lagi apabila keberadaannya dalam jumlah yang banyak (Sunaryo, 2008).

*D. pentandra* dideskripsikan sebagai berikut: berupa tumbuhan perdu, bersifat hemiparasit, agak tegak, bercabang banyak, dan tinggi 0,5–1,5 m. Daun seperti terlihat pada Gambar 2.1 letaknya tersebar atau sedikit berhadapan, menjorong, panjang 6–13 cm, dan lebar 1,5–8 cm, pangkal menirus–membaji, ujung tumpul–runcing, panjang tangkai daun 5–20 mm. Perbungaan tandan dengan 6–12 bunga, dan panjang sumbu perbungaan 10–35 mm. Bunga dengan 1 braktea di pangkal, biseksual, diklamid, kelopak mereduksi; mahkota bunga terdiri atas 5 cuping, di bagian bawah saling berpautan, agak menggelembung, panjang 13–26 mm, menyempit membentuk leher, bagian ujung menggelembung, mula-mula hijau kemudian hijau kekuningan sampai kuning jingga atau merah jingga, panjang tabung 6–12 mm; benang sari 5, panjang kepala sari 2–5 mm, dan tumpul serta melekat pada bagian pangkal (basifik); putik dengan kepala putik membintul. Buah berbentuk bulat telur, panjang mencapai 10 mm dengan lebar 6 mm, bila masak kuning jingga. Berbiji 1, biji ditutupi lapisan lengket (Sunaryo, 2008). Morfologi *D. pentandra* dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Morfologi *D. pentandra* (Linnaeus) Miquel (Phytoimages, 2017)

#### 2.1.4 Kandungan Kimia

Tumbuhan benalu secara umum mengandung flavonoid, kuersetin, mesoinositol, rutin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid (Fajriah *et al.*, 2007; Ikawati *et al.*, 2008). Kuersetin merupakan suatu senyawa flavonol glikosida yang menjadi marker taksonomi dari keluarga Loranthaceae (Ikawati *et al.*, 2008). Senyawa golongan steroid ( $\beta$ -sitosterol) diperoleh dari isolat fraksi n-heksan dan flavonoid kuersitrin diperoleh dari hasil isolasi fraksi etanol daun benalu (Katrin *et al.*, 2005).

Ekstrak heksan daun *D. pentandra* mengandung senyawa steroid atau triterpenoid, sedangkan pada ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol terkandung senyawa flavonoid, tannin, kuinon, dan steroid atau triterpenoid (Fajriah *et al.*, 2007). Ekstrak metanol *D. pentandra* yang tumbuh pada kakao (*Theobroma cacao*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan tidak terdeteksi adanya alkaloid, ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan saponin serta tidak terdeteksi adanya tannin dan alkaloid (Sembiring *et al.*, 2016). Penelitian lain menyebutkan bahwa benalu mangga memiliki kandungan flavonoid kuersetin, polifenol, saponin dan tanin (Nunung *et al.*, 2015).

Pada ekstrak etanol *D. pentandra* yang tumbuh pada buah belimbing (*Averrhoa carambola*), yang aktif sebagai antioksidan adalah flavonol glikosida, kuersitrin (kuersitrin-3-o-rhamnosidase) (Artanti *et al.*, 2006). Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak daun benalu mangga mengandung metabolit sekunder polifenol, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, serta kuinon (Nurfaat dan Indriyati, 2016).

#### 2.1.5 Penelitian tentang *D. pentandra*

Pada penelitian sebelumnya *D. pentandra* telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antikanker, imunomodulator, antiplasmodium, dan antibakteri (Nur *et al.*, 2013; Rahmi *et al.*, 2011; Bulan *et al.*, 2016). Artanti *et al.* (2006) menyatakan bahwa ekstrak etanol *D. pentandra* yang tumbuh pada inang belimbing (*Averrhoa carambola*) yang kemudian dianalisis menggunakan TLC, LC-MS, UV-VIS dan IR spektrofotometer dengan hasil isolat golongan senyawa glikosida

jantung dan kuersetin, memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  5,19  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Aktivitas antioksidan dari flavonoid total daun benalu *D. pentandra* dari pohon glodokan (*Polialthia longifolia*) menggunakan spektrofotometer UV Visibel pada panjang gelombang maksimum 516 nm diperoleh *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ) sebesar 6,16 mg/L dengan persen peredaman sebesar 98,61 % pada konsentrasi 100 ppm yang berarti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Bulan *et al.*, 2016). Penelitian Harmita & Radji (2005) menunjukkan, ekstrak etanol herba benalu mangga tidak toksik berdasarkan klasifikasi toksisitas yakni berada pada rentang dosis  $>15$  g/kgBB tikus. LD50 mencit jantan sebesar 34,28 g/kgBB atau setara dengan dosis 23,99 g/kgBB tikus, sedangkan pada mencit betina sebesar 22,41 g/kgBB atau setara dengan dosis 15,69 g/kgBB tikus (Nurfaat *et al.*, 2016).

## 2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi

Kandungan kimia dari suatu tanaman atau simplisia nabati yang berkasiat obat umumnya mempunyai sifat kepolaran yang berbeda-beda, sehingga perlu dipisahkan secara selektif menjadi kelompok-kelompok tertentu. Salah satu contohnya adalah alkaloid yang banyak terdapat pada tanaman berbunga. Secara kimia alkaloid merupakan basa organik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen di dalam satu cincin. Alkaloid di dalam tanaman berada dalam bentuk garam dari asam-asam organik lemah. Alkaloid bebas dapat larut dalam pelarut organik seperti kloroform, sedangkan garam-garam organik larut dalam larutan air (Goeswin, 2007).

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Harbone, 1996). Proses ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dengan zat yang diinginkan larut (Voight, 1994).

Menurut Departemen Kesehatan RI (2006), ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga

terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Beberapa metode yang banyak digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain:

a. Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Maserasi. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Prinsip dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak dengan proses difusi, yang terbentuk pada saat penghalusan. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan cairan telah mencapai kondisi setimbang, dan proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-rulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar  $27^{\circ}\text{C}$ . Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar  $27^{\circ}\text{C}$ , sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen Kesehatan RI, 2006).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Departemen Kesehatan RI, 2006).

c. Sokletasi

Metode ekstraksi soklet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan

membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soklet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

d. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kostan) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50<sup>0</sup>C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

f. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98<sup>0</sup>C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006).

g. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100<sup>0</sup>C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

### 2.3 Tinjauan Tentang Skrining Fitokimia

Pendekatan skrining fitokimia merupakan suatu tahap seleksi awal guna mendeteksi golongan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan. Metode ini merupakan salah satu dari beberapa pendekatan yang lazim digunakan untuk

mengetahui komponen senyawa kimia tumbuhan yang memiliki aktivitas biologis. Pendeteksian golongan senyawa kimia tumbuhan dapat dilakukan dengan uji tabung dan atau uji penegasan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) (Gritter *et al.*, 1968).

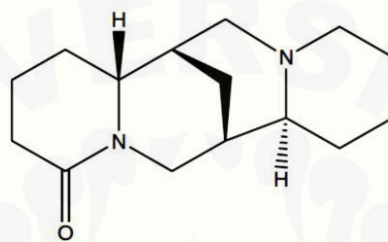
Uji tabung dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan reagen tertentu sehingga terjadi perubahan warna, terbentuk endapan, dan lain-lain sebagai ciri adanya golongan senyawa kimia tertentu. Sedangkan uji penegasan KLT dilakukan dengan menotolkan larutan ekstrak diatas lempeng KLT (fase diam) dan mengeluasi lempeng tersebut dalam fase gerak yang cocok, sehingga golongan senyawa kimia tertentu dapat terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya dengan terbentuk suatu noda. Fase diam yang biasa digunakan adalah silica gel sebagai adsorben yang efisien untuk pemisahan ekstrak. Sedangkan fase gerak yang digunakan merupakan campuran dua atau tiga sistem pelarut yang berbeda kepolarannya (Wagner & Baldt, 1996). Pemisahan dengan KLT dapat mudah teramati jika semua senyawa yang dipisahkan berwarna, namun jika beberapa atau semua senyawa tidak berwarna maka harus dilakukan penampakan noda. Noda yang terbentuk dapat diamati di bawah sinar tampak dan sinar UV. Jika senyawa yang diteliti mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik, noda akan tampak gelap dengan latar belakang bersinar pada UV 254 nm. Sedangkan jika pada UV 365 nm, noda yang sama akan tampak berpendar. Jika pengamatan di bawah sinar UV tidak dapat mendeteksi suatu senyawa, maka perlu dilakukan uji reaksi dengan penyemprotan atau penguapan dengan reagen tertentu sehingga akan menghasilkan warna tertentu (Gritter *et al.*, 1968).

Golongan senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis atau yang biasa disebut senyawa metabolit sekunder menurut Kabera *et al.* (2014), yaitu sebagai berikut.

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom basa nitrogen. Namun, ada juga senyawa yang terkait memiliki sifat asam lemah dan netral juga termasuk dalam alkaloid. Alkaloid diproduksi oleh sebagian besar organisme seperti fungi, bakteri, hewan, dan paling banyak oleh tumbuhan sebagai

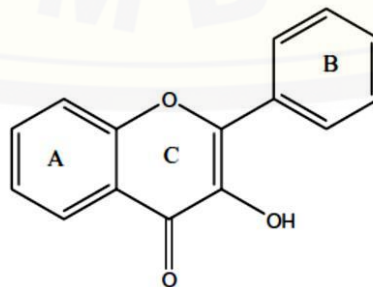
metabolit sekunder. Kebanyakan senyawa alkaloid bersifat toksik terhadap organisme lain dan dapat diekstraksi dengan asam-basa. Namun alkaloid juga mempunyai banyak efek farmakologi dan telah lama digunakan untuk pengobatan. Klasifikasi dari senyawa alkaloid didasarkan pada kemiripan kerangka karbonnya. Alkaloid merupakan hasil biosintesis dari asam amino seperti tirosin. Contoh senyawa alkaloid adalah Lupanine. Struktur kimia Lupanine dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur lupanine (Wink, 2010)

b. Flavonoid

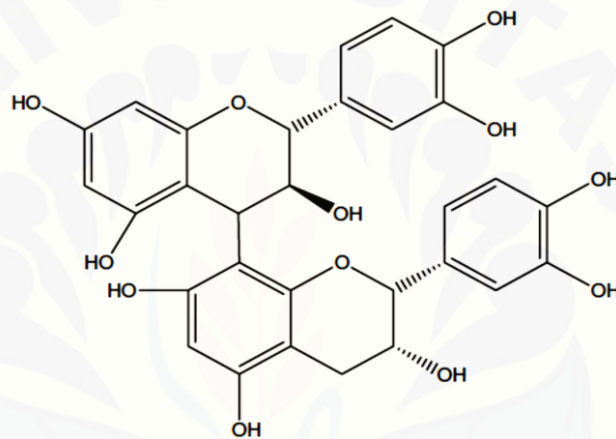
Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang dapat ditemukan di vakuola sel tumbuhan sebagai pigmen yang larut air. Flavonoid terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu antosianin, flavonol, dan flavon. Senyawa tersebut terdistribusi luas pada tumbuhan, memenuhi banyak fungsi, seperti pewarnaan bunga, produksi pigmen kuning, merah, atau biru pada petal untuk menarik hewan yang membantu penyerbukan. Flavonoid mempunyai beberapa aktivitas farmakologi, diantaranya antialergi, antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan antivirus. Salah satu contoh senyawa flavonoid adalah flavonol. Struktur flavonol dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur flavonol (Sumber: Brewer, 2011)

c. Tanin

Tanin termasuk dalam senyawa polifenol. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein, tepung, selulosa, dan mineral. Tanin disintesis melalui jalur asam sikhimat yang juga dikenal dengan jalur fenilpropanoid. Terdapat 2 kelompok senyawa tanin, yaitu tanin terhidrolisis (galotanin, eligatanin, dan tannin kompleks) dan tanin terkondensasi. Tanin yang terkandung dalam tumbuhan memiliki aktivitas sebagai astringen untuk diare, diuretik untuk tumor lambung dan duodenal, dan antiinflamasi. Salah satu contoh senyawa tannin adalah katekin. Struktur kimia katekin dapat dilihat pada Gambar 2.4.

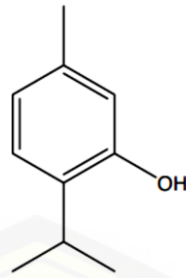


Gambar 2.4 Struktur katekin (Sumber: Wink, 2010)

d. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid merupakan struktur dasar dari sebagian senyawa fitokimia lainnya, seperti steroid, karotenoid, dan asam giberelat. Lebih dari 23.000 struktur senyawa aktif tumbuhan yang merupakan kelompok terpenoid. Terpenoid merupakan gabungan dari unit isopren yang disintesis dari jalur asam mevalonat. Penggolongan senyawa terpenoid ditentukan berdasarkan jumlah unit isopren yang terbentuk. Triterpenoid merupakan senyawa golongan terpenoid dengan jumlah unit isopren sebanyak 5. Sedangkan steroid merupakan golongan triterpenoid yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentana perhidrofenantren. Contoh senyawa terpenoid adalah timol. Struktur senyawa timol dapat dilihat pada Gambar 2.5

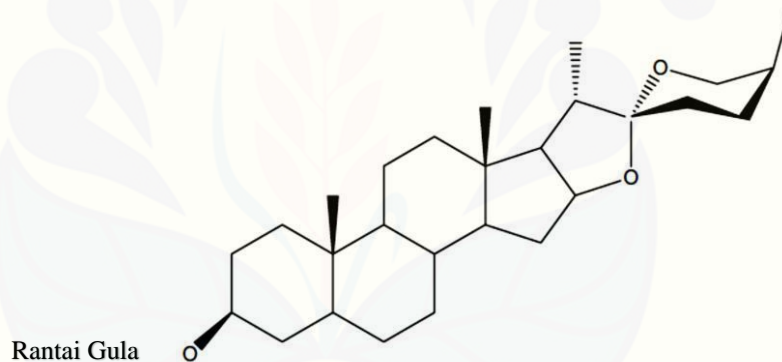




Gambar 2.5 Struktur timol (Sumber: Wink, 2010)

e. Saponin

Saponin merupakan senyawa yang sebagian aktif membentuk larutan koloid di dalam air yang memproduksi buih ketika dikocok dan mengendapkan kolesterol. Saponin membentuk glikosida dengan aglikon steroid atau triterpenoid. Saponin dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Struktur kimia dari steroidal saponin dapat dilihat pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Struktur steroidal saponin (Sumber: Wink, 2010)

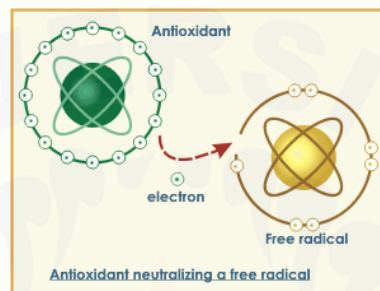
## 2.4 Tinjauan Antioksidan

### 2.4.1 Definisi

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron. Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2011).

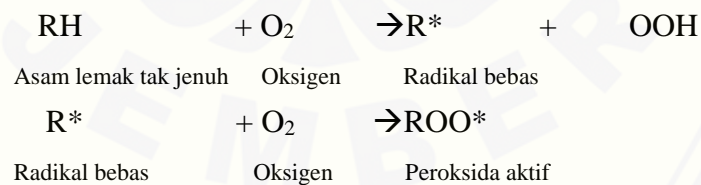
### 2.4.2 Mekanisme

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu: 1). Pelepasan hidrogen dari antioksidan, 2) Pelepasan elektron dari antioksidan, 3). Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, 4). Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Winarti 2010).



Gambar 2.7. Cara kerja antioksidan (Winarti, 2010)

Menurut Winarti (2010) prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat fotooksidasi pada lemak dapat dilihat sebagai berikut: Oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.



Gambar 2.8. Prinsip kerja antioksidan dalam menghambat fotooksidasi pada lemak (Gordon, 1990)

Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan

bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan suatu antioksidan.

#### 2.4.3 Sumber Antioksidan

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, dan (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, *Angiosperm* memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari (Pratt, 1992).

### 2.5 Tinjauan Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan *in vitro*

Pengembangan metode uji aktivitas antioksidan telah banyak dilakukan secara *in-vitro* ataupun *in-vivo*. Beberapa metode uji aktivitas antioksidan secara *in-vitro* yang telah dilakukan adalah :

#### 2.5.1 Metode Dena Terkonjugasi

Metode uji dena terkonjugasi memberikan kuantifikasi yang dinamis dari dena terkonjugasi sebagai hasil dari oksidasi *Poly Unsaturated Fatty Acids*

(PUFA) dengan cara mengukur serapan UV pada 234 nm. Prinsip dari metode ini adalah selama oksidasi asam linoleat ikatan rangkap diubah menjadi ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat dikarakterisasi oleh serapan UV kuat pada panjang gelombang 234 nm. Aktivitas tersebut dinyatakan dalam konsentrasi inhibisi ( $IC_{50}$ ) (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.2 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Uji peredaman radikal DPPH merupakan uji dekolorisasi untuk mengukur kemampuan antioksidan yang secara langsung bereaksi dengan (meredam) radikal DPPH dengan memantau absorbansinya pada 517 nm dengan spektrofotometer. Radikal DPPH merupakan radikal bebas dengan pusat nitrogen organik yang stabil berwarna ungu tua yang ketika tereduksi menjadi bentuk non radikal oleh antioksidan menjadi tidak berwarna (Yu, 2008).

#### 2.5.3 Metode Aktivitas Peredaman Radikal Superoksida

Uji peredaman radikal superoksida dikembangkan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan hidrofilik untuk secara langsung bereaksi dengan radikal. Uji ini mengukur kemampuan antioksidan untuk berkompetisi dengan *Nitroblue Tetrazolium* (NBT) untuk meredam radikal superoksida. NBT yang berwarna kuning selama proses reduksi membentuk formazan yang berwarna biru yang diukur secara spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm (Yu, 2008).

#### 2.5.4 Metode Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil suatu ekstrak berhubungan secara langsung dengan aktivitas antioksidannya. Metode ini melibatkan pembentukan radikal hidroksil secara *in vitro* menggunakan  $Fe^{3+}$ / askorbat/ EDTA/  $H_2O_2$  dengan menggunakan reaksi Fenton. Penghambatan radikal hidroksil dengan adanya antioksidan diukur. Pada salah satu metode radikal hidroksil dibentuk secara oksidasi dibuat untuk berasi dengan *Dimethyl Sulphoxide* (DMSO), untuk menghasilkan formaldehida. Formaldehida yang dibentuk memberikan warna kuning intensif dengan peraksi Nash (ammonium asetat 2 M dengan asam asetat 0,05 M dan asetil aseton 0,02 M dalam aquadest). Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur secara spektroskopi pada panjang gelombang 412 nm,

dibandingkan dengan blanko negatif. Aktivitas ini dinyatakan sebagai persen penghambatan radikal hidroksil (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.5 Metode Aktivitas Penghambatan Radikal Nitrat Oksidan

Nitrogen monoksida, karena memiliki elektron tidak berpasangan, diklarifikasikan sebagai radikal bebas dan memperlihatkan reaktivitas penting dengan jenis protein tertentu dan radikal bebas dan memperlihatkan reaktivitas penting dengan jenis protein tertentu dan radikal bebas lainnya. Penghambatan *in vitro* dari jenis radikal nitrogen monoksida juga diukur sebagai aktivitas antioksidan. Metode ini berdasarkan penghambatan radikal nitrogen monoksida yang dihasilkan dari Natrium Nitoprusida dalam dapar garam dan diukur dengan pereaksi Griess. Dengan adanya penghambatan, serapan dari kromofor diukur pada panjang gelombang 546 nm. Aktivitas ini menunjukkan persen reduksi nitrogen monoksida (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.6 Metode Kekuatan Pereduksi

Prinsip dari metode ini adalah peningkatan serapan dari reaksi pencampuran. Peningkatan serapan menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Pada metode ini senyawa antioksidan membentuk kompleks berwarna dengan kalium ferisianida, trikloroasetat dan besi (III) klorida, yang diukur pada panjang gelombang 700 nm. Peningkatan serapan dari reaksi menunjukkan penurunan kekuatan dari sampel (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.7 Metode Fosfomolibdenum

Metode ini merupakan spektroskopi untuk penentuan kapasitas antioksidan secara kuantitatif, melalui pembentukan kompleks fosfomolibdenum. Pengujian berdasarkan reduksi dari Mo (VI) menjadi Mo (V) oleh sampel analit yang mengandung antioksidan pada PH asam (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.8 Metode ABTS (garam 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfoniksid) diamonium)

Metode peredaman radikal kation ABTS<sup>•+</sup> merupakan metode uji untuk mengukur kapasitas antioksidan yang secara langsung bereaksi atau meredam radikal kation ABTS yang dihasilkan dari reaksi kimia. ABTS<sup>•+</sup> merupakan radikal dengan pusat nitrogen dengan karakteristik warna biru kehijauan, yang ketika

tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk nonradikal yang tidak berwarna. Metode ini mengkuatifikasikan kapasitas peredaman dengan mengukur absorbansi campuran reaksi antiosidan dengan radikal pada panjang gelombang 734 nm pada waktu yang telah ditentukan dengan spektrofotometer (Yu, 2008).

#### 2.5.9 Metode Kapasitas Serapan Radikal Oksigen (ORAC)

ORAC merupakan metode analisis tes yang baru yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan makanan dan senyawa kimia lainnya. Prosedur analisis ini mengukur kemampuan makanan, vitamin, suplemen nutrisi, atau bahan kimia lainnya untuk melindunginya terhadap radikal bebas, atau bertindak sebagai antioksidan. Uji ini dilakukan dengan menggunakan trolox (analog vitamin E) sebagai standar untuk menentukan Trolox Ekuivalen (TE). Nilai ORAC kemudian dihitung dari TE dan dinyatakan sebagai satuan nilai ORAC. Semakin tinggi nilai ORAC, maka semakin besar kekuatan antioksidannya. Uji ini berdasarkan pembentukan radikal bebas menggunakan *2,2-azobis-2-amido propane dihydrochloride* (AAPH) dan pengukur dari penurunan fluoresensi dengan adanya penghambatan radikal bebas, APPH sebagai penghasil peroksil dan trolox sebagai kontrol standar. Setelah penambahan APPH ke larutan uji, fluoresensi direkam dan aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai TE (Shivaprasad, 2005).

#### 2.5.10 Metode Model Linoleat $\beta$ -karoten

Metode ini adalah yang cepat untuk penampisan antioksidan, yang terutama berdasarkan prinsip bahwa asam linoleat yang merupakan asam lemak tak jenuh teroksidasi oleh SOR yang dihasilkan oleh air teroksigenasi. Produk yang dibentuk akan menginisiasi reaksi oksidasi  $\beta$ -karoten, yang akan memicu pemudaran warna. Antioksidan menurunkan perluasan pemudaran warna yang diukur pada 434 nm dan aktivitasnya diukur (Shivaprasad, 2005).

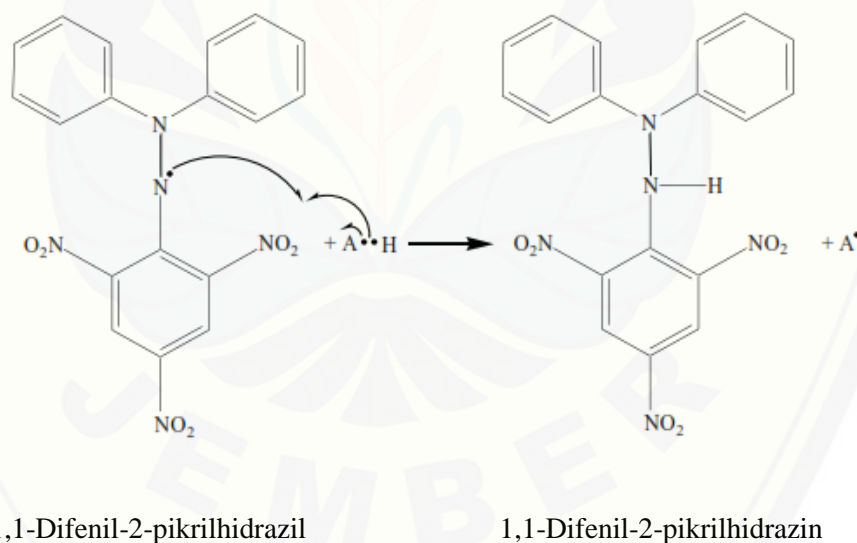
#### 2.5.11 Metode FRAP

*Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) merupakan salah satu uji tercepat dan sangat bermanfaat untuk analisis rutin. Aktivitas antioksidan diperkirakan dengan mengukur peningkatan serapan yang disebabkan oleh pembentukan ion  $\text{Fe}^{2+}$  dari pereaksi FRAP yang berisi TPTZ (*2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine*)  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Serapannya diukur pada 595 nm (Shivaprasad, 2005).

### 2.5.12 Lipid Peroksidasi Mikrosomal atau Uji Asam Tiobarbiturat

Uji TBA salah satu uji yang sering dilakukan untuk mengukur peroksidasi lipid. Metode ini melibatkan isolasi mikrosom dari hati tikus dan induksi lipid peroksida dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ , memicu produksi sejumlah kecil malondialdehida (MDA). TBA berreaksi dengan MDA untuk membentuk kromagen merah muda, yang dapat dideteksi secara spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm (Shivaprasad, 2005).

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan radikal bebas stabil DPPH. Metode DPPH banyak dipilih karena mudah, cepat, peka, dan hanya membutuhkan sedikit ekstrak sampel (Hanani *et al.* 2005). Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokalikasi elektron bebas pada suatu molekul sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain.



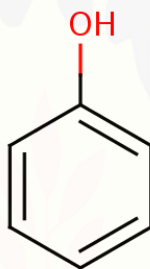
Gambar 2.9 Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH (Windono *et al.*, 2001).

Elektron radikal bebas DPPH memberikan serapan kuat maksimum pada panjang gelombang sebesar 517 nm dan berwarna ungu. Kestabilan radikal dari DPPH baik digunakan sebagai indikator aktivitas penangkap radikal (Reynertson, 2005). Perubahan warna ungu menjadi kuning sebagai pengikat radikal DPPH pada  $\lambda_{\text{maks}}$  517 nm, elektron ganjil dari radikal DPPH menjadi berpasangan dengan

hidrogen dari antioksidan penangkap radikal bebas untuk membentuk DPPH-H tereduksi. Penghilangan warna yang dihasilkan merupakan stoikiometri yang berhubungan dengan jumlah elektron yang ditangkap (Prakash, 2007).

## 2.6 Tinjauan tentang 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 sebagai berikut:



Gambar 2.10 Stuktur fenol

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan, dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007).



Senyawa fenol dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon di dalam suatu molekul (Haborne & Simmonds, 1964).

Tabel 2.1 Golongan senyawa fenol (Vermerris, W. A & Nicholson, R. 2006)

Struktur	Kelas
$C_6$	Fenolik sederhana
$C_6-C_1$	Asam fenolat dan senyawa yang berhubungan lainnya
$C_6-C_3$	Asam sinamat, sinamil aldehida, sinamil alkohol
$C_6-C_3$	Koumarin, isokoumarin, dan 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

Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Namun beberapa lainnya hanya sebatas dugaan sementara. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol

seederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana: orsinol, 4-metilresorsinol, 2-metilresorsinol, resorsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987; Apak *et al.*, 2007).

## **2.7 Tinjauan Metode Penetapan Kadar Fenol Total dengan pereaksi Folin-Ciocalteu**

Heterogenitas fenolat alami dan kemungkinan gangguan dari zat mudah teroksidasi lainnya di dalam tanaman, menyebabkan beberapa metode telah dikembangkan untuk penetapan kadar fenolat total dari sampel. Metode penetapan kadar fenolat total yang telah dilakukan yaitu :

### **2.7.1 Metode Folin-Denis (FD)**

Metode Folin denis digunakan untuk menentukan kandungan tanin total ditentukan berdasarkan penambahan reagen pembentuk warna yaitu folin denis. Pembentukan warnanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor dan folin denis sebagai oksidator. Prinsip dari metode folin denis adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur serapannya pada daerah sinar tampak (Dai & Mumper, 2010).

### **2.7.2 Metode Folin-Ciocalteu (F-C)**

Metode ini mengukur kemampuan sampel pada kondisi basa untuk mereduksi pereaksi Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi biru gelap dan memberikan serapan pada panjang gelombang 760 nm (Yu, 2008). Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel (Blainski *et al.*, 2013).

### **2.7.3 Metode Lowenthal-Procter**

Analisis kadar tanin dilakukan dengan menggunakan titrasi secara permanganometri atau metode Lowenthal-Procter. Permanganometri adalah titrasi yang didasarkan pada reaksi redoks. Metode ini didasari oksidasi fenolat oleh larutan kalium permanganat dengan adanya indigokarmin sebagai indikator redoks untuk menunjukkan indikator titrasi (Wang & Zhou, 2004).

#### 2.7.4 Metode kolorimetri

Penentuan konsentrasi flavonoid dari ekstrak etanol daun pare dilakukan dengan kompleks kolorimetri  $\text{AlCl}_3$  yang mempunyai prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol. Prinsip penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri  $\text{AlCl}_3$  adalah terbentuknya kompleks antara  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari pengukuran kuersetin adalah 510 nm (Cahyanta, 2016).

Pada penelitian ini menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dengan metode spektrofotometer untuk menentukan kadar fenol total dari sampel benalu mangga. Metode ini merupakan metode yang umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total karena merupakan metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai masa ekuivalen asam galat tiap mg sampel (Fu *et al.*, 2011). Asam galat digunakan sebagai pembanding karena telah diketahui sebagai senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman, selain itu asam galat merupakan standar yang direkomendasikan untuk mendapatkan hasil yang reliabel karena mempunyai reaktivitas yang cukup tinggi terhadap reagen Folin-Ciocalteu (Prioir *et al.*, 2005).

Pereaksi Folin-Ciocalteu dibuat dengan campuran sodium tungstat ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), sodium molibdat ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), HCl, 85%, asam fosforik, dan  $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), yang menghasilkan larutan berwarna kuning yang jernih. Hasil pengukuran biasanya dinyatakan setara dengan asam galat (GAE). Asam galat digunakan karena tidak mahal, larut dalam air, mudah terekristalisasi, kering, dan stabil dalam bentuk kering (Singleton *et al.*, 1999).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian *True Experimental Laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboraturium Kimia Analisis dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember, yang berlangsung mulai bulan Februari 2017.

### 3.3 Populasi dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Benalu mangga yang tumbuh di perkebunan penduduk di wilayah Desa Tenggir, Kecamatan Panji, Kabupaten Situbondo dan Desa Curah Cottok, Kecamatan Kapongan, Kabupaten Situbondo.

#### 3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun benalu *D. pentandra* pada inang pohon mangga arummanis, manalagi, dan gadung (*Mangifera indica* L.) yang telah berbunga sempurna. Sampel dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

### 3.4 Alat dan Bahan

#### 3.4.1 Alat

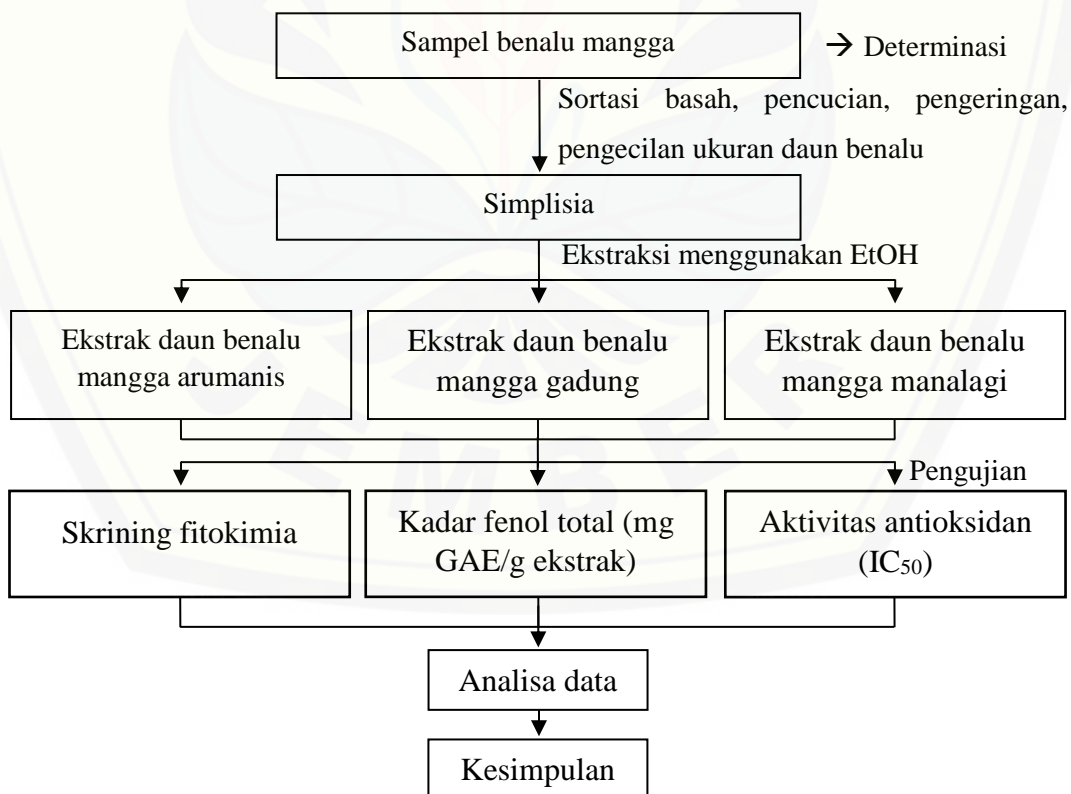
Alat yang digunakan pada penelitian ini spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), oven, timbangan analitik Sartorius, aluminium foil, *hot plate*, *beaker glass* 1000 ml dan 100 ml (Pyrex), erlenmeyer 250ml (Pyrex), pipet mikro, pipet volume, bola pipet, gelas ukur 100 ml dan 50 ml (Pyrex), *rotary evaporator*, cawan porselen, gelas ekstrak, batang pengaduk, spatula, corong buchner, vial, dan kertas saring.

### 3.4.2 Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung yang diambil di Desa Curah Cottok, Kecamatan Kapongan, Kabupaten Situbondo. Bahan-bahan lainnya yaitu etanol 96%, HCl 2N, reagen Dragendroff, reagen Mayer, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, kloroform, FeCl<sub>3</sub> 1%, HCl pekat, akuades, standar asam galat (sigma-aldrich), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (sigma-aldrich), vitamin C, reagen Folin-Ciocalteu (merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dan metanol.

### 3.5 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia, penetapan kadar fenol total dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung. Adapun alur rancangan penelitiannya dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Alur rancangan penelitian

### 3.6 Variabel Penelitian

#### 3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung.

#### 3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung.

#### 3.6.3 Variabel Terkendali

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

### 3.7 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian adalah :

- a. Daun yang digunakan adalah seluruh daun kecuali yang masih berupa kuncup.
- b. Ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia serbuk daun kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%.
- c. Skrining fitokimia adalah skrining yang digunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid dalam ekstrak etanol benalu mangga.
- d. Kadar fenol total adalah jumlah senyawa fenolik yang terkandung didalam ekstrak
- e. Aktifitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam warna DPPH yang dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ .

### 3.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap, yaitu :

#### 3.8.1 Pengumpulan Sampel

Sampel benalu didapatkan pada inang pohon mangga arummanis, manalagi, dan gadung (*Mangifera indica* L.) milik penduduk di wilayah Desa Tenggir, Kecamatan Panji, Kabupaten Situbondo dan Desa Curah Cottok, Kecamatan Kapongan, Kabupaten Situbondo.

#### 3.8.2 Determinasi Tanaman Benalu Mangga

Semua bagian tanaman Benalu Mangga *D. pentandra* dideterminasi di LIPI Kebun Raya Purwodadi untuk memastikan bahwa tanaman yang diuji merupakan benar-benar spesies *D. pentandra*.

#### 3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis, Manalagi, dan Gadung

Ekstraksi simplisia daun benalu mangga menggunakan metode maserasi yang mengacu pada Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) pada tahun 2005, yakni dengan cara merendam 30 gram serbuk kering daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan antara simplisia dengan pelarut 1:10. Larutan direndam selama 24 jam dan dikocok beberapa waktu, larutan didiamkan pada suhu ruang. Maserat kemudian difiltrasi dan pelarutnya diganti sebanyak dua kali. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak setengah kental. Ekstrak setengah kental dikeringkan dalam oven sehingga didapatkan ekstrak kental kemudian dihitung persen rendemen dan disimpan dalam lemari pendingin untuk pengujian selanjutnya.

### 3.8.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung mengacu pada prosedur yang terdapat pada Materia Medika Indonesia (1989) sebagai berikut:

#### a. Identifikasi Alkaloid

Setiap ekstrak diambil masing-masing 0,3 gram ditambah 5 ml HCl 2N, dipanaskan diatas penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk. Setelah dingin, lalu ditambahkan 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtratnya kemudian ditambah dengan 5 ml HCl 2N. Setelah itu ditambahkan NH<sub>4</sub>OH 28% sampai larutan menjadi basa kemudian diekstraksi dengan kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan KLT.

Fase diam	: Kiesel gel GF 254
Fase gerak	: Etil asetat : metanol : air (9 : 2 : 2)
Penampak noda	: Pereaksi dragendorf

Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid pada ekstrak.

#### b. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak dikocok dengan 3 ml n-heksana berkali-kali sampai ekstrak n-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dengan etanol. Kemudian ditotolkan pada fase diam dengan menggunakan :

Fase diam	: Kiesel gel GF 254
Fase gerak	: Butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)
Penampak noda	: Pereaksi sitrat borat atau uap ammonia

Jika timbul warna kuning intensif menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak.

#### c. Identifikasi Saponin

Setiap ekstrak diambil masing-masing 0,1 gram dan ditambahkan 2 ml H<sub>2</sub>O dan dipanaskan selama 5 menit. Larutan tersebut didinginkan, kemudian dikocok hingga timbul busa. Busa yang stabil selama 10 menit menunjukkan keberadaan saponin.



d. Identifikasi terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak ditambah beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut dan ditotolkan pada fase diam.

Fase diam : Kiesel gel GF 254  
Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)  
Penampak noda : Anisaldehyda asam sulfat

Adanya terpenoid dan steroid ditunjukkan dengan adanya warna merah ungu atau ungu.

e. Identifikasi Polifenol

0,3 gram ekstrak ditambah 1 ml aquadest panas, diaduk dan dibiarkan sampai suhu kamar. Kemudian ditambah 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan disaring. Kemudian ditotolkan pada lempeng KLT yang menggunakan :

Fase diam : Kiesel gel GF 254  
Fase gerak : Kloroform : etil asetat (1 : 9)  
Penampak noda :  $\text{FeCl}_3$

Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol dalam ekstrak.

### 3.8.5 Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar Fenol total ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Nganggu (2016) dan Poh-Hwa *et al.*, (2011) menggunakan reagen Folin-Ciocalteu sebagai berikut :

a. Pembuatan larutan baku asam galat

Larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 1.000  $\mu\text{g/ml}$  dengan menimbang asam galat 25 mg yang dilarutkan dalam 25,0 ml metanol. Larutan asam galat diambil sebanyak 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 6,0 dan 8,0 ml ke dalam labu takar 10,0 ml, kemudian ditambahkan metanol sampai batas tanda, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar asam galat sebesar 20; 30; 40; 50; 60 dan 80  $\mu\text{g/ml}$ .

b. Pembuatan larutan uji

Ekstrak etanol daun benalu pada inang mangga manalagi, urammanis dan gadung, masing-masing ditimbang sebanyak 20 mg ke dalam labu takar 25,0 ml, lalu ditambahkan metanol sampai batas tanda sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 800  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan uji kemudian dipipet 1 ml ke dalam labu takar 10 ml, lalu ditambahkan metanol sampai batas tanda sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji sebesar 80  $\mu\text{g/ml}$ . Masing-masing dilakukan tiga kali replikasi.

c. Penetapan panjang gelombang maksimum

Larutan asam galat diambil sebanyak 0,2 ml dengan konsentrasi 150  $\mu\text{g/ml}$  ditambahkan dengan 750  $\mu\text{g/ml}$  reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan air (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan selanjutnya ditambahkan dengan 600  $\mu\text{L}$  7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Diamkan di tempat gelap selama 30 menit, absorbansinya dibaca pada  $\lambda$  maksimum dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 600-800 nm.

d. Penentuan Waktu Inkubasi

Larutan uji ekstrak konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$  dan larutan standar (asam galat) konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  masing-masing sebanyak 150  $\mu\text{l}$  ditambah dengan 750  $\mu\text{l}$  reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan akuades (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian, ditambahkan 600  $\mu\text{l}$  7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

e. Pembuatan kurva baku asam galat

Larutan asam galat konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60 dan 80  $\mu\text{g/ml}$  diambil sebanyak 150  $\mu\text{l}$  dan masing-masing ditambah dengan 750  $\mu\text{l}$  reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan akuades (1:10 v/v) serta didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian ditambahkan 600  $\mu\text{l}$  7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi sesuai waktu inkubasi yang telah dioptimasi di tempat gelap. Setelah itu, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer visibel terhadap blanko

yang terdiri atas akuades-metanol (1:1 v/v), reagen Folin-Ciocalteu dan larutan 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

f. Penetapan kandungan fenolik total larutan uji

Diambil 150 µl larutan uji, lalu masing-masing ditambahkan 750 µl reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan air (1:10 v/v) dan didiamkan selama 5 menit dengan pengadukan sesekali. Kemudian ditambahkan 600 µl 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi sesuai waktu inkubasi yang telah dioptimasi di tempat gelap. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer visibel sesuai panjang gelombang serapan maksimum.

g. Perhitungan

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

### 3.8.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Penetapan kadar aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Molyneux (2004) sebagai berikut :

a. Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 1 mg DPPH dilarutkan ke dalam 25 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Larutan tersebut ditutup dengan aluminium foil dan harus selalu dibuat baru

b. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1,2 ml dipipet ke dalam tabung reaksi lalu ditambah 300 µl metanol, di vortex hingga homogen. Kemudian dituang ke dalam kuvet lalu diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

c. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0,1 mM dipipet sebanyak 1,2 ml dan ditambahkan 300  $\mu$ l metanol. Kemudian divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Molyneux, 2004). Selanjutnya, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat.

d. Pembuatan Larutan Sampel

Larutan stok 1.000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg ekstrak ke dalam 25 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.

f. 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 1.000  $\mu$ g/ml. Larutan dipipet 250, 300, 500, 600, 1000  $\mu$ l dan dimasukkan labu ukur 10 ml. Volume kemudian dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas.

g. Penetapan Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Vitamin C

Masing-masing sampel dipipet sebanyak 300  $\mu$ l ditambahkan 1,2 ml 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.

#### h. Perhitungan

Perhitungan untuk menentukan persen peredaman larutan uji dan vitamin C digunakan rumus pada persamaan berikut,

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

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  $IC_{50}$ .

### 3.9 Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil penetapan kadar fenol total dan pengujian aktivitas antioksidan dibandingkan antara ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang mangga arummanis, manalagi dan gadung. Data yang diperoleh diolah dan dilihat distribusi datanya normal dan homogen. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dan jika data signifikan maka dilanjutkan dengan *post hoc (LSD)*. Perbedaan dianggap bermakna apabila  $p\text{-value} \leq 0,05$  dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%. Jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, data diuji statistic non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan apabila diperoleh hasil yang signifikan dilanjutkan *Man-Whitney*.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang mangga manalagi, arummanis dan gadung, menunjukkan golongan senyawa alkaloid , flavonoid, terpenoid, steroid, dan polifenol, namun senyawa tanin hanya ditemukan dalam ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang mangga gadung.
2. Kadar fenol total tertinggi terdapat pada sampel ekstrak etanol daun benalu mangga gadung yaitu  $358,203 \pm 4,445$  mg GAE/g, kemudian diikuti oleh ekstrak etanol daun benalu mangga arummanis  $282,869 \pm 3,440$  GAE/g, dan yang terakhir adalah ekstrak etanol daun benalu mangga manalagi  $237,314 \pm 4,438$  GAE/g, serta terdapat perbedaan kadar fenol total yang signifikan antara ketiga ekstrak tersebut.
3. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol benalu mangga gadung sebesar  $6,558 \pm 0,052$   $\mu$ g/ml, ekstrak etanol benalu mangga arummanis  $10,120 \pm 0,069$   $\mu$ g/ml, dan ekstrak etanol benalu manalagi  $10,893 \pm 0,105$   $\mu$ g/ml.
4. Nilai  $IC_{50}$  terendah dimiliki oleh ekstrak etanol benalu mangga gadung, kemudian diikuti oleh ekstrak etanol benalu mangga arummanis, dan terakhir adalah ekstrak etanol benalu manalagi, serta terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  yang signifikan antara ketiga ekstrak tersebut.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun benalu mangga gadung, ekstrak etanol daun benalu mangga arummanis dan ekstrak etanol daun benalu mangga manalagi.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vivo* pada ekstrak etanol daun benalu mangga gadung, ekstrak etanol daun benalu mangga arummanis dan ekstrak etanol daun benalu mangga manalagi yang lebih besar untuk dikembangkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adler, L.S. 2002. Host effect on herbivora and pollination in a hemiparasitic plant. *Journal Ecology*. 83(10): 2700 – 2710.
- Agoes, Goeswin. 2007. *Teknologi bahan alam*. Institut Teknologi Bandung, Jakarta: 12-15.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B & Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7):1496-1547.
- Artanti, N., Ma'arifa, Y., & Hanafi, M. 2006. Isolation and identification of active antioxidant compound from star fruit (*Averrhoa carambola*) Mistletoe (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq. ) ethanol extract. *Journal of Applied Sciences*. 6 (8): 1659-1663.
- Artanti, N. 2010. *Evaluasi aktivitas antioksidan berbagai ekstrak daun benalu (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq) yang tumbuh pada inang belimbing dan mangga*. Puslit Kimia Lipi, Kawasan Puspiptek, Serpong.
- Backer, A and Van Den Brink, B., 1965, *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Volume I, N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.
- Biradar, Y.S. 2010. TLC Densitometric Quantification of Vasicine, Vasicinone and Embelin from *Adhatoda zeylanica* Leaves and *Embelia ribes* Fruits (Tesis).P. 140. Bonilla
- BPOM. 2005. Standardisasi ekstrak tumbuhan obat indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli indonesia. *Info POM*. Vol 6(4) : 1-12.
- Brewer, M. S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10:221-247.
- Broto W. 1994. *Budi Daya dan Pascapanen Mangga*. Pusat Perpustakaan Pertanian dan Komunikasi Penelitian. Badan Penelitian dan Pengembangan Penelitian
- Bulan R, A Fahmi. 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Flavonoid Total Daun Benalu (Dendrophthoe Pentandra (L) Miq) Dari Pohon Glodokan (Polyalthia Longifolia)*. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia 2016, 30-31 May 2016, Medan.

- Blainski, A., Lopes, G.C., de Mello, J.C.P. 2013. Application and Analysis of the Folin - Ciocalteu for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. 18:6852 - 6865.
- Capelli, B. & G. Cysewski. 2007. Natural astaxanthin: Kingdom of carotenoid. *Nature* 78: 7.
- Connor, A.M., Luby, J.J., & Tong, C.B.S. 2002. Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 127: 238–244.
- C.G.G.J. Van Steenis. 1975. *Flora Untuk Sekolah Di Indonesia*. Jakarta Pusat: PT. Pradnya Paramita.
- Dai, J. & R.J. Mumper. 2010. Plat phenolic : extraction, analysis and their antioxidant an anticancer properties. *Molecules*. 15(1) :7313-7352.
- Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan:116.
- Departemen Kesehatan RI. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol.2, 124, Jakarta, Depkes RI.
- Dinas Pertanian Tanaman Pangan. 2015. Produksi Tanaman dan Buah Mangga di Kabupaten Situbondo Tahun 2014. Situbondo. Jawa Timur
- Djoko, A. P. 1997. Analisis DNA Teralkilasi Oleh 1,2-Dimetilhidrasin Ekstrak Teh Hijau (*Camelia sinensis*). Laporan Penelitian Dasar Tahun Anggaran 1996/1997. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Es-Safi, N.E., Ghidouche, S. dan Ducrot, P.H. 2007. Flavonoids: hemisynthesis, reactivity, characterization and free radical scavenging activity. *Molecule*; 12(9): 2228-58.
- Fajriah, Darmawan, Sundowo, & Artanti, N. 2007. Isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun benalu *Dendrophthoe pendrandra* L. Miq yang tumbuh pada inang lobi-lobi. *Jurnal Kimia Indonesia*. 2 (1): 17-20.
- Fessenden, R. J & Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Jilid 2. Erlangga.
- 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 Chemistry*, 129(2), 345-350.
- García-Solís, P., Yahia, E.M., & Aceves, C. 2008. Study of the effect of ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L.) intake on mammary carcinogenesis and



- antioxidant capacity in plasma of N-methyl-N-nitrosourea (MNU)- treated rats. *Food Chemistry*. 111: 309–315.
- Gitawati, R. 1995. Radikal bebas, sifat dan perannya dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Journal Cermin Dunia Kedokteran*, 102: 33-36.
- Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food antioxidants*. Springer Netherlands. 1-18
- Grice, H. C. 1986. Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. *Food and Chemical Toxicology*. 24: 1127–1130.
- Gritter, R. J., J. M. Bobbit & A. E. Schwarting. 1968. *Introduction to Chromatography*. Second Edition. California: International Business Machines Inc. Terjemahan oleh K. Panduwinata dan S. Niksolihin. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: ITB.
- Handajani, A., Roosihermiatie, B., dan Maryani, H., 2010. Faktor-faktor yang Berhubungan Dengan Pola Kematian Pada Penyakit Degeneratif di Indonesia. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, volume 13(1), p. 42-53.
- Hanani, E., Mun'im, A. & Sekarini, R., 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp dari kepulauan seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3): 127-133.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi Kedua. Bandung: ITB.
- Harborne, J B. 1993. *Introduction to Ecological Biochemistry*, 4<sup>th</sup> edition. London. Academic Press.
- Harborne JB, dan Simmonds NW. 1964. *Biochemistry of Phenolic Compounds*. London. Academic Press.
- Harmita & Radji M. 2005. *Analisis hayati*. Jakarta: Percetakan Ari Cipta: 51-55.
- Ikawati & Muthi. 2008. *Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Anti Kanker*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada..
- Indrawati, R.. 1999. *Pengkajian Kemampuan Hambatan Pertumbuhan Sel Kanker Mieloma Secara In Vitro Antara Maserasi Benalu Duku dan Maserasi Benalu Teh Dibandingkan Metotreksat*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kabera, J. N., E. Semana, A. R. Mussa and X. He. 2014. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: 377-392.

- Katrin, Soemardji. A. A. Soeganda, A. G., & Soediro, I., 2005, Toksisitas Akut Isolat Fraksi n-Heksan dan Etanol Daun *Dendrophthoe petandra* (L.) Miq. yang Mempunyai Aktivitas Imunostimulan, *Majalah Farmasi Indonesia*, 16(4), 227 – 231.
- Kardono LBS. 2003. Kajian kandungan Kimia Mahkota Dewa (*Phaleria marcocarpa*). Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. P.56
- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. P.47-48.
- Kumalaningsih, Sri. 2006. *Antioksidan alami*, Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Lukis PA, Ersam T. Dua senyawa mangostin dari ekstrak n-heksan pada kayu akar manggis (*Garcinia mangostana* Linn) asal Kab. Nganjuk Jawa Timur. Porsiding Akhir Semester Genap 2010/2011; Kimia-FMIPA ITS
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Nair CI, Jayachandran K, Shashidar S. 2008. Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology* 7:49514958.
- Nganggu, Y. P. H. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Radikal DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Benalu *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser pada Tanaman *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. Ex S. Moroe. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Nurfaat L. Diantika, & Wiwiek Indriyati. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran. Sumedang. Jawa Barat. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.
- Nur, J et al. 2013. Bioaktivitas getah pelepah pisang ambon *Musa paradisiacal* var *Sapientum* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Fakultas Biologi, Universitas Hasanuddin. Skripsi
- Nunung K., Mimin K., Nurhasana, Riska P.S., & Riza W. 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Bandung.

- Phytoimages. 2017. Loranthaceae : *Dendrophthoe pentandra*. [http://www.phytoimages.siu.edu/imgs/paraman1/r/Loranthaceae\\_Dendrophthoe\\_pentandra\\_78830.html](http://www.phytoimages.siu.edu/imgs/paraman1/r/Loranthaceae_Dendrophthoe_pentandra_78830.html). [Diakses pada 5 Juni 2017].
- Poh-Hwa, T., C. Yoke-Kqueen, J. I. Bala, dan R. Son. 2011. Bioprotective properties of three Malaysia *Phyllanthus* species: an investigation of the antioxidant and antimicrobial activities. *International Food Research Journal*. 18: 887–893.
- Prabantini, D., 2010, A to Z Makanan Pendamping ASI, 1<sup>th</sup> ed., Andi, Yogyakarta, pp. 68.
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Medallion Laboratories Analytical Progress*, (19):2.
- Pratt, D. E. 1992. *Natural Antioxidant from Plant Material*. Di dalam Huang, M. T., Ho, C. T. dan Lee, C. Y. (eds). Effect on Health II :Antioxidant and Cancer Prevention. American Chem. Soc., Washington, DC.
- 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 agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Riswiyanto. 2009. *Kimia Organik*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Saifudin, A., 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish, Yogyakarta.
- Sarker, S.D. & Nahar, L., (2009). *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi, Bahan Kimia Organik, alam dan Umum*. Yogyakarta:Pustaka Pelajar.
- Sanches ACC, Lopes GC, Nakamura CV, Filho BPD, and Mello JCP, 2005. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(1),.
- Semiring, H.B., Lenny, S., & Marpaung, L. 2016. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) *Chimica et Natura Acta*. 4(3): 117-122.
- Seidel, V. 2008. Initial and Bulk Extraction. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., editors. *Natural Products Isolation*. 2<sup>nd</sup> Ed. New Jersey: Humana Press. P.33-34.
- Shivprasad, H. N., Mohan, H., Kharya, M. D., Shiradkar, M., & Lakshman, K. 2005. In-vitro models for antioxidant activity evaluation: a review. *Pharmainfo Net*, 3(4), 1-11.


- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- Sunaryo. 2008. Pemasrasitan Benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. pada Tumbuhan Koleksi Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. Bidang Botani, Puslit Biologi – LIP. *Jurnal Natur Indonesia* 11(1): 48-58.
- Thomas, A. N. S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Kanisius. Yogyakarta.
- Velazquez, E., H.A. Tournier, P.M. de Buschiazzo, G. Saavedra & G.R. Schinella, 2003. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, 74: 91-97.
- Vermerris, W. & Nicholson, R.. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, The Netherlands.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Terjemahan : S. Noerono. Gadjah Mada University Press. Indonesia.
- Wagner, H. & Baldt. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second Edition. New York: Springer
- Walker, J. (2002). *The Protein Protocols Handbook*. Totowa: Humana Press Inc.
- Wang, R & Zhou, W. 2004. Stability of Tea Catechin in Bread Making Process. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52: 8224-8229.
- Watson, D. M. 2001. Mistletoe-a keystone resource in Forest and wood lands worldwide. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32:219-49.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius, 12-23, 50-56.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., & Srielita, E. 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.
- Wink, M. 2010. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites (Chapter 1). *Annual Plant Reviews*. 40:1–19.
- Yu, L. 2008. *Wheat Antioxidants*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara, Sain*. Vol. 15. No. 1.

Zhang SJ, Lin YM, Zhou HC, Wei SD, Lin GH, and Ye GF, Antioxidant tannins from stem bark and fine root of *Casuarina equisetifolia*, *Molecules*, 15, 2010, 5658-5670.




## Lampiran 4.1 Lembar determinasi



**LIPI**

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)**  
**BALAI KONSERVASI TUMBUHAN**  
**KEBUN RAYA PURWODADI**  
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**  
 No: 0567/IPH.06/HM/V/2017

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

Nama : Muhammad Ridlo  
 NIM : 132210101038  
 Instansi : Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.  
 Tanggal material diterima : 3 Mei 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:


Kingdom : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Class : Magnopsida  
 Subclass : Rosidae  
 Ordo : Sapindales  
 Family : Anacardiaceae  
 Genus : Mangifera  
 Species : *Mangifera indica* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 149
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 10 Mei 2017



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



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 05/8 /IPH.06/HM/V/2017

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

Nama : Muhammad Ridlo  
NIM : 132210101038  
Instansi : Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.  
Tanggal material diterima : 3 Mei 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnopsida  
Subclass : Rosidae  
Ordo : Santalales  
Family : Loranthaceae  
Genus : Dendrophoe  
Species : *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 72
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI

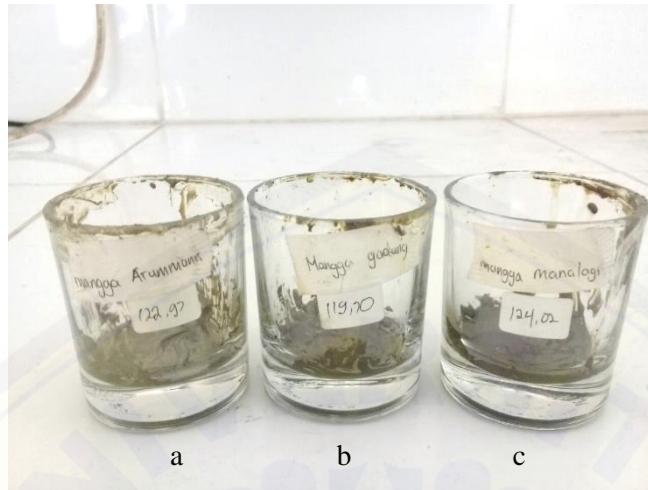
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 10 Mei 2017



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

## Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak



Gambar 4.6 Ekstrak Etanol Benalu Mangga

Keterangan: (a) Ekstrak etanol benalu mangga arummanis, (b) Ekstrak etanol benalu mangga gadung, dan (c) ekstrak etanol benalu mangga manalagi

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

a. Ekstrak Etanol benalu mangga arummanis

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{4,17 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 13,90\% \end{aligned}$$

b. Ekstrak Etanol benalu mangga gadung

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{3,31 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 11,03\% \end{aligned}$$

c. Ekstrak Etanol benalu mangga manalagi

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{4,8 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 16,00\% \end{aligned}$$

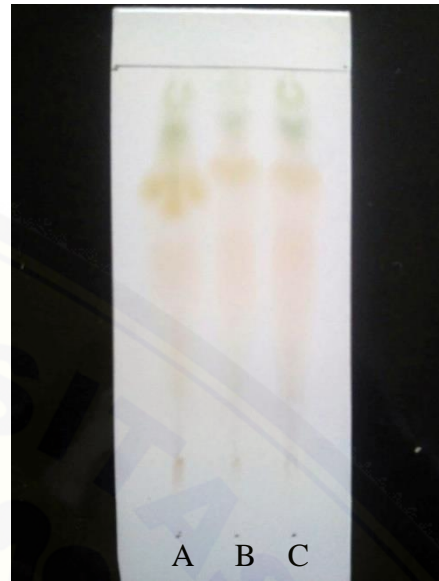


Lampiran 4.3 Hasil Skrining Fitokimia



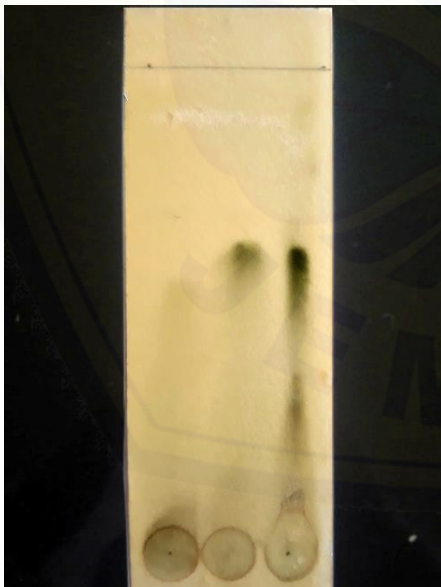
Keterangan : Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi (A), Arummanis (B), dan Gadung (C)

Alkaloid



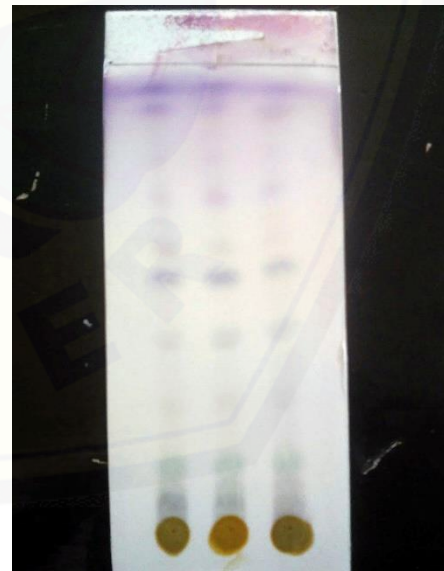
Keterangan : Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi (A), Arummanis (B), dan Gadung (C)

Flavonoid



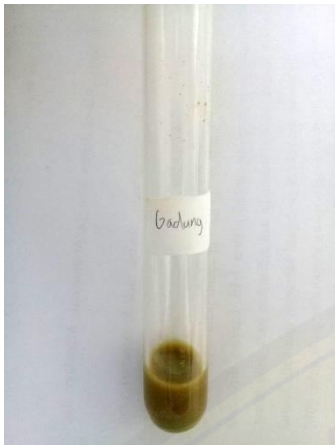
Keterangan : Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi (A), Arummanis (B), dan Gadung (C)

Polifenol

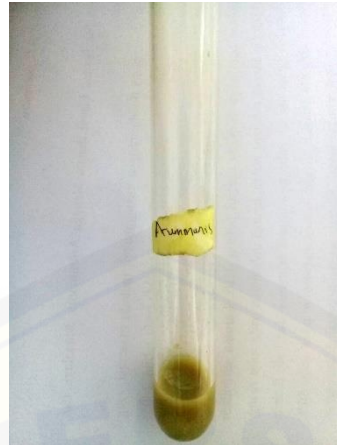


Keterangan : Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi (A), Arummanis (B), dan Gadung (C)

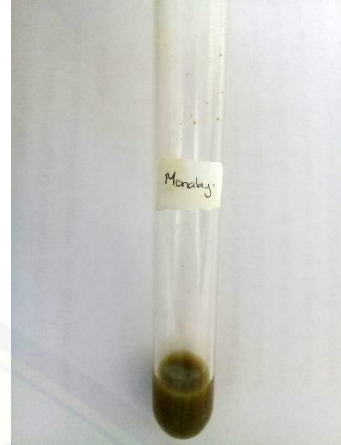
Terpenoid dan Steroid



Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Manalagi



Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Arummanis



Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Gadung

Saponin



Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Manalagi



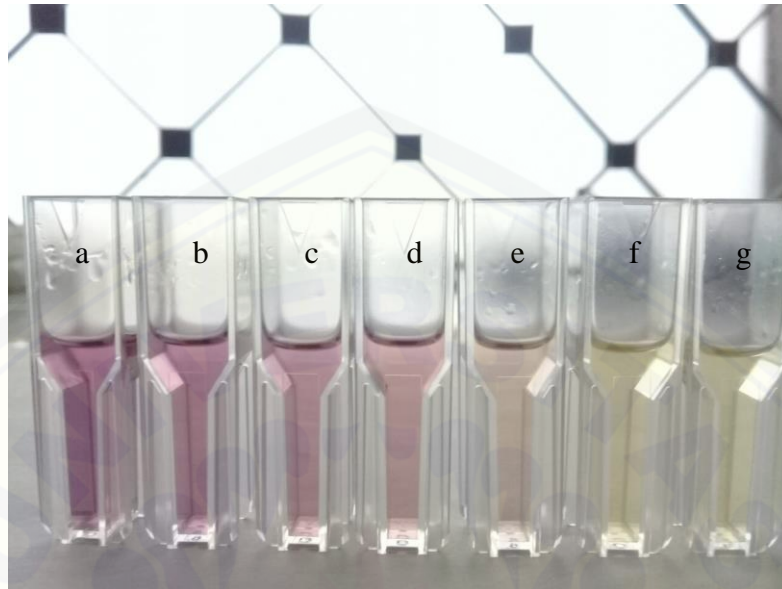
Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Arummanis



Ekstrak Etanol Benalu  
Mangga Gadung

Tanin

#### Lampiran 4.4 Perhitungan DPPH dan larutan uji



Gambar 4.7 Larutan uji DPPH

Keterangan: Pengujian  $IC_{50}$  larutan uji ; (a)  $10 \mu\text{g/ml}$  (b)  $20 \mu\text{g/ml}$  (c)  $30 \mu\text{g/ml}$  (d)  $40 \mu\text{g/ml}$  (e)  $60 \mu\text{g/ml}$  (f)  $80 \mu\text{g/ml}$  (g)  $100 \mu\text{g/ml}$

##### 1. Perhitungan DPPH

Konsentrasi DPPH =  $0,1 \text{ mM}$  (Molyneux, 2004)

Mr DPPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ) =  $394,33 \text{ g/mol}$  (Molyneux, 2004)

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

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

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

## 2. Pembuatan larutan uji

## a. Vitamin C

## Replikasi 1

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

$$\frac{2 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,25 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,02 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 500,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,006 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 500,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,01 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.004 \text{ } \mu\text{g/ml} = 502 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,04 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200,8 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,6 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 500,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,012 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 2

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

$$\frac{2 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml} = 203,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,25 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,08 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 508 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,24 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 508 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.016 \text{ } \mu\text{g/ml} = 508 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,16 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 203,2 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,32 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,6 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 508 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,48 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk : } \frac{25,7 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.028 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.028 \text{ } \mu\text{g/ml} = 205,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,25 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 205,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 5,14 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 514 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15,42 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 514 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25,70 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.028 \text{ } \mu\text{g/ml} = 514 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 205,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10,28 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 205,6 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20,56 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{0,6 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 514 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30,84 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## b. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi

## Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## c. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

## Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## d. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung

## Replikasi 1

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 2

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

## Replikasi 3

$$\text{Larutan Induk: } \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{4,00 \text{ ml}}{5,0 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 1.000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 200 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

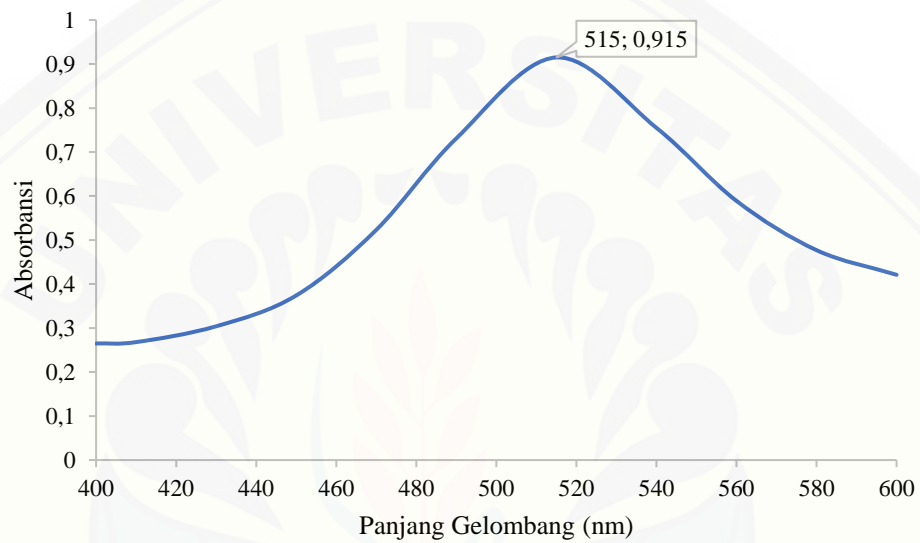
$$\frac{1,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,00 \text{ ml}}{5,00 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 40 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3,00 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml} = 60 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

**Lampiran 4.5 Penentuan panjang gelombang DPPH**

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



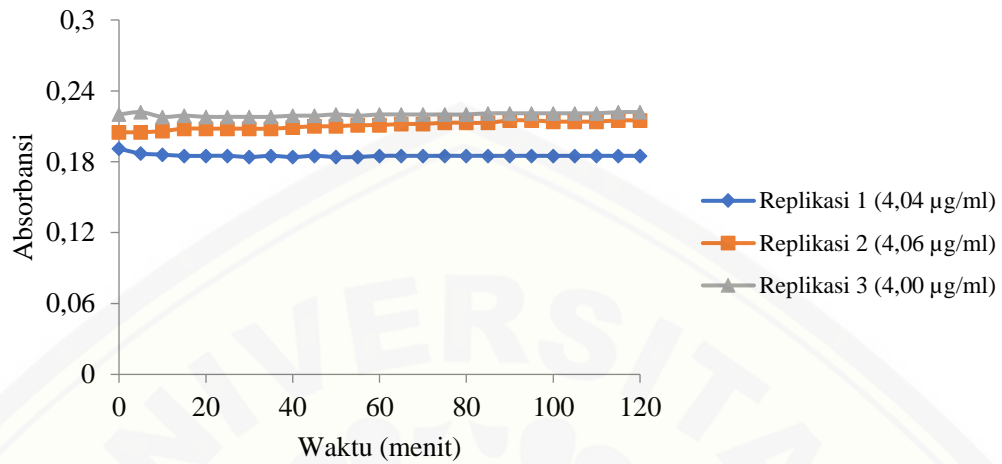
Gambar 4.3 Spektrum panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Keterangan: Spektrum panjang gelombang maksimum DPPH 0,1mM terpilih, yaitu 515 nm



### Lampiran 4.6 Penentuan waktu inkubasi

#### a. Vitamin C

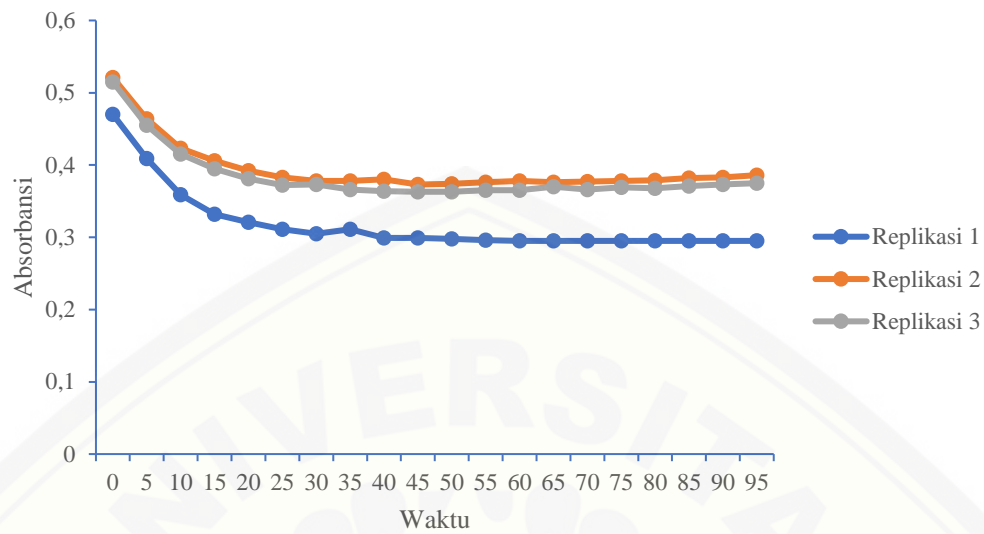


Gambar 4.8 Waktu inkubasi Vitamin C metode DPPH

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

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

## b. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi

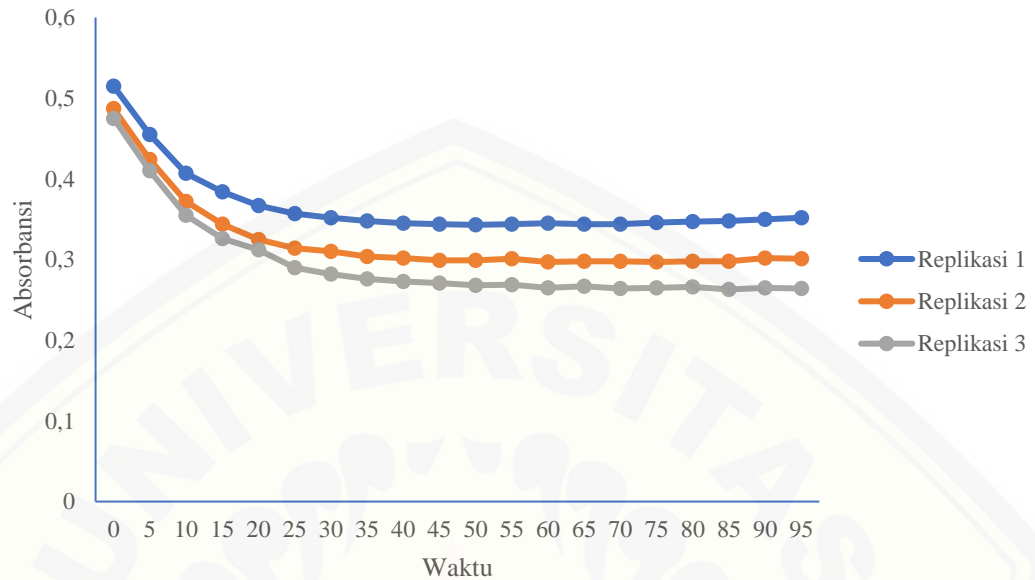


Gambar 4.9 Waktu inkubasi benalu mangga manalagi metode DPPH

Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga manalagi yang terpilih yang terpilih, yaitu 40 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (16,08 µg/ml)	Replikasi 2 (16,08 µg/ml)	Replikasi 3 (16,25 µg/ml)
0	0,470	0,521	0,515
5	0,409	0,464	0,455
10	0,359	0,423	0,415
15	0,332	0,406	0,395
20	0,321	0,392	0,381
25	0,311	0,383	0,372
30	0,305	0,378	0,373
35	0,311	0,378	0,366
40	0,299	0,380	0,364
45	0,299	0,373	0,363
50	0,298	0,374	0,363
55	0,296	0,376	0,365
60	0,295	0,378	0,365
65	0,295	0,376	0,370
70	0,295	0,377	0,366
75	0,295	0,378	0,369
80	0,295	0,379	0,368
85	0,295	0,382	0,371
90	0,295	0,383	0,373
95	0,295	0,386	0,375

## c. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

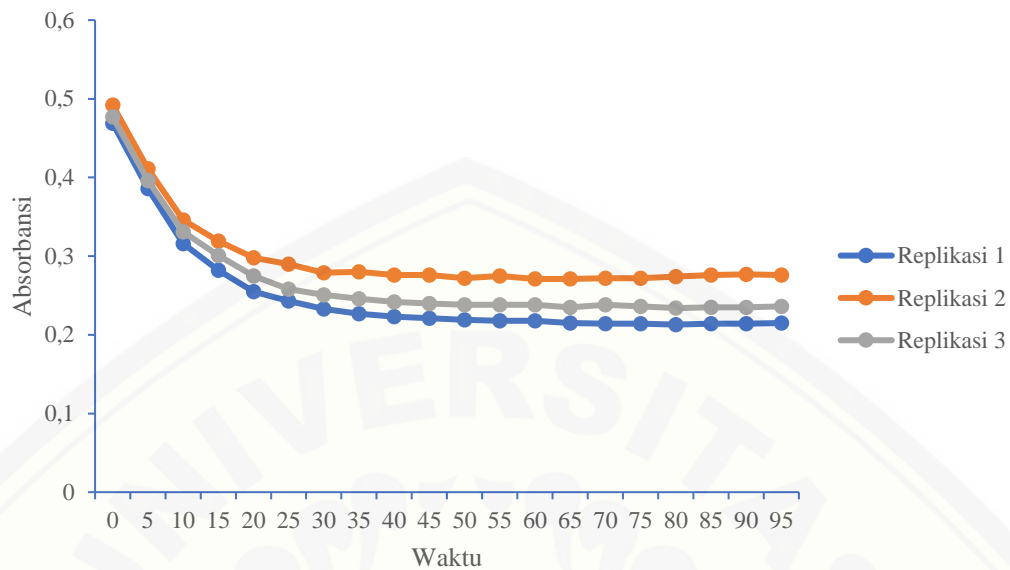


Gambar 4.10 Waktu inkubasi benalu mangga arummanis metode DPPH

Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga arummanis yang terpilih, yaitu 50 menit

Waktu (menit)	Replikasi 1 (16,25 µg/ml)	Replikasi 2 (16,12 µg/ml)	Replikasi 3 (16,08 µg/ml)
0	0,515	0,487	0,475
5	0,455	0,424	0,410
10	0,407	0,372	0,355
15	0,384	0,344	0,326
20	0,367	0,325	0,312
25	0,357	0,314	0,290
30	0,352	0,310	0,282
35	0,348	0,304	0,276
40	0,345	0,302	0,273
45	0,344	0,299	0,271
50	0,343	0,299	0,268
55	0,344	0,301	0,269
60	0,345	0,297	0,265
65	0,344	0,298	0,267
70	0,344	0,298	0,264
75	0,346	0,297	0,265
80	0,347	0,298	0,266
85	0,348	0,298	0,263
90	0,350	0,302	0,265
95	0,352	0,301	0,264

## d. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung



Gambar 4.11 Waktu inkubasi benalu mangga gadung metode DPPH

Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga gadung yang terpilih, yaitu 60 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (16,12 µg/ml)	Replikasi 2 (16,12 µg/ml)	Replikasi 3 (16,08 µg/ml)
0	0,469	0,492	0,477
5	0,386	0,411	0,396
10	0,316	0,346	0,331
15	0,282	0,319	0,301
20	0,255	0,298	0,275
25	0,243	0,290	0,258
30	0,233	0,279	0,251
35	0,227	0,280	0,246
40	0,223	0,276	0,242
45	0,221	0,276	0,240
50	0,219	0,272	0,238
55	0,218	0,275	0,238
60	0,218	0,271	0,238
65	0,215	0,271	0,235
70	0,214	0,272	0,238
75	0,214	0,272	0,236
80	0,213	0,274	0,234
85	0,214	0,276	0,235
90	0,214	0,277	0,235
95	0,215	0,276	0,236

**Lampiran 4.7 Perhitungan peredaman DPPH dan IC<sub>50</sub>**

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

Sampel	IC <sub>50</sub> (μg/ml)	Rata-rata IC <sub>50</sub> (μg/ml)	SD	RSD (%)
Vitamin C	3,381	3,461	0,0689	1,992
	3,498			
	3,502			
Ekstrak Etanol	10,777	10,893	0,1049	0,963
Benalu	10,921			
Manalagi	10,982			
Ekstrak Etanol	10,142	10,120	0,0699	0,691
Benalu	10,041			
Arummanis	10,176			
Ekstrak Etanol	6,594	6,558	0,0525	0,801
Benalu Gadung	6,582			
	6,498			

## a. Vitamin C

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,004	0,921	0,749	18,675	3,381
2,036	0,921	0,664	27,904	
3,004	0,921	0,49	46,797	
4,072	0,921	0,352	61,781	
5,09	0,921	0,291	68,404	
6,008	0,921	0,099	89,251	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,016	0,921	0,778	15,527	3,498
2,032	0,921	0,664	27,904	
3,008	0,921	0,512	44,408	
4,064	0,921	0,373	59,501	
5,08	0,921	0,305	66,884	
6,024	0,921	0,101	89,034	

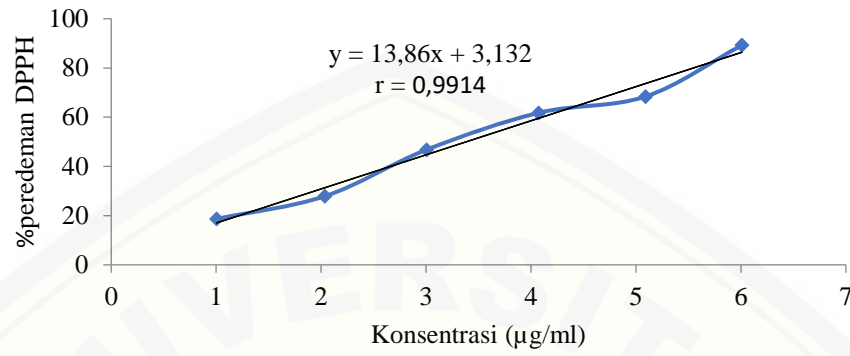
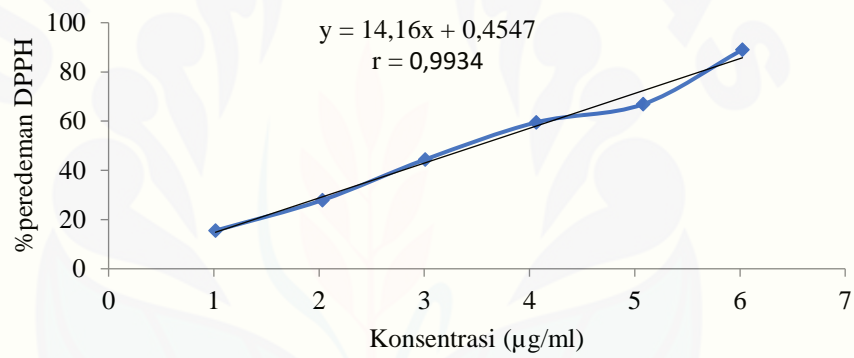
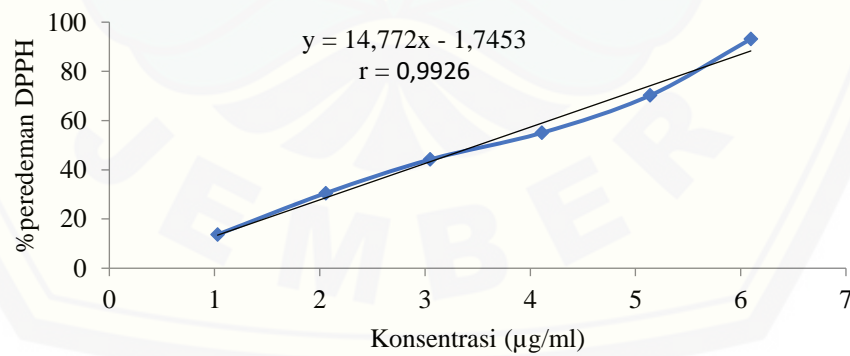
## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
1,028	0,921	0,795	13,681	3,503
2,056	0,921	0,64	30,510	
3,048	0,921	0,514	44,191	
4,112	0,921	0,414	55,049	
5,14	0,921	0,274	70,250	
6,096	0,921	0,063	93,160	

Rata-rata IC<sub>50</sub> = 3,461  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,068974

RSD = 1,992 %

- Regresi Linier IC<sub>50</sub> Vitamin C**Replikasi 1****Replikasi 2****Replikasi 3**

## b. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,931	0,819	12,030	10,777
4	0,931	0,734	21,160	
6	0,931	0,643	30,934	
8	0,931	0,576	38,131	
12	0,931	0,407	56,283	
16	0,931	0,243	73,899	
20	0,931	0,127	86,358	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,931	0,832	10,633	10,921
4	0,931	0,747	19,763	
6	0,931	0,66	29,108	
8	0,931	0,531	42,964	
12	0,931	0,394	57,679	
20	0,931	0,147	84,210	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,931	0,841	9,6670	10,982
4	0,931	0,771	17,185	
6	0,931	0,655	29,645	
8	0,931	0,556	40,279	
12	0,931	0,400	57,035	
16	0,931	0,242	74,006	
20	0,931	0,147	84,210	

Rata-Rata IC<sub>50</sub> = 10,893  $\mu\text{g/ml}$

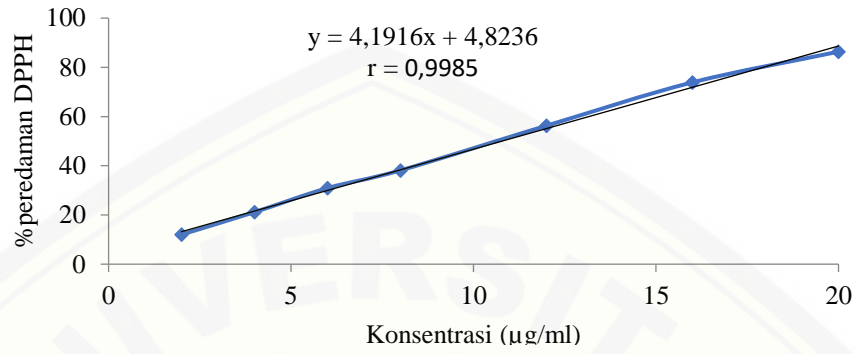
SD = 0,104

RSD = 0,963%

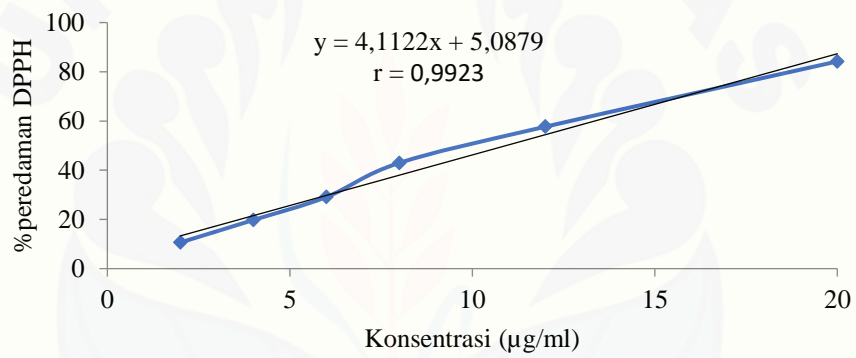


- Regresi linier IC<sub>50</sub> Ekstrak Benalu Mangga Manalagi

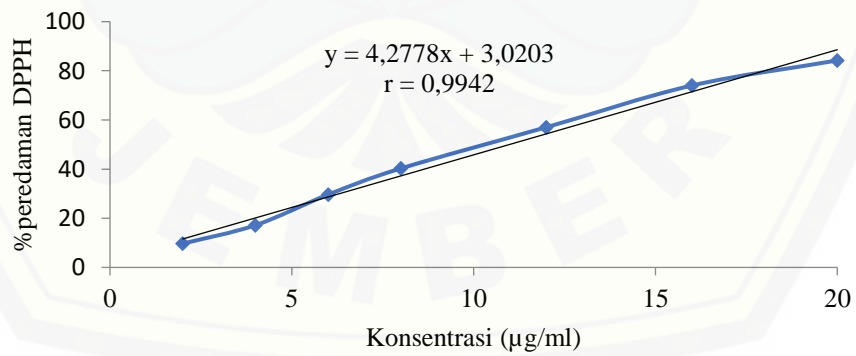
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**



**Replikasi 3**



## c. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,804	0,725	9,826	10,142
4	0,804	0,628	21,891	
6	0,804	0,537	33,209	
8	0,804	0,477	40,672	
16	0,804	0,164	79,602	
20	0,804	0,060	92,537	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,804	0,721	10,323	10,041
4	0,804	0,623	22,512	
6	0,804	0,560	30,348	
8	0,804	0,458	43,035	
16	0,804	0,139	82,711	
20	0,804	0,069	91,418	

## - Replikasi 3

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,804	0,712	11,443	10,176
4	0,804	0,633	21,269	
6	0,804	0,554	31,095	
8	0,804	0,453	43,657	
12	0,804	0,287	64,303	
20	0,804	0,091	88,682	

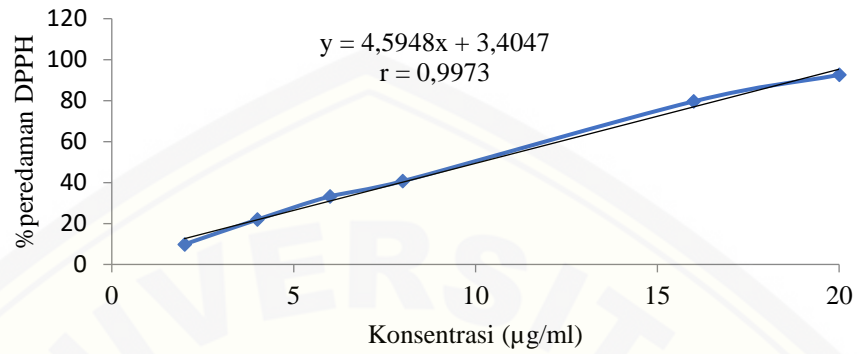
Rata-rata IC<sub>50</sub> = 10,120  $\mu\text{g/ml}$

SD = 0,0699

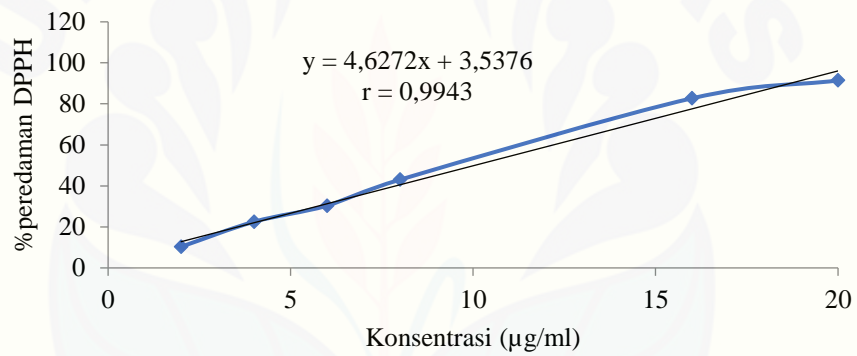
RSD = 0,691%

- Regresi linier IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

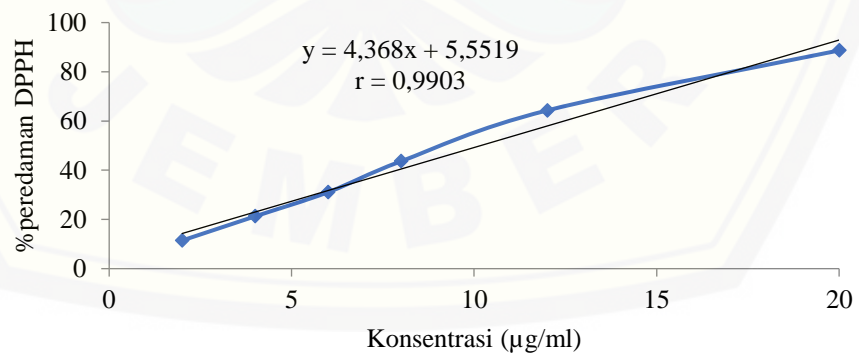
**Replikasi 1**



**Replikasi 2**



**Replikasi 3**



## d. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung

## - Replikasi 1

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,918	0,682	25,708	6,594
4	0,918	0,585	36,274	
6	0,918	0,476	48,148	
8	0,918	0,388	57,734	
12	0,918	0,210	77,124	

## - Replikasi 2

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,918	0,688	25,054	6,582
4	0,918	0,606	33,986	
6	0,918	0,505	44,989	
8	0,918	0,371	59,586	
12	0,918	0,173	81,154	

## - Replikasi 3

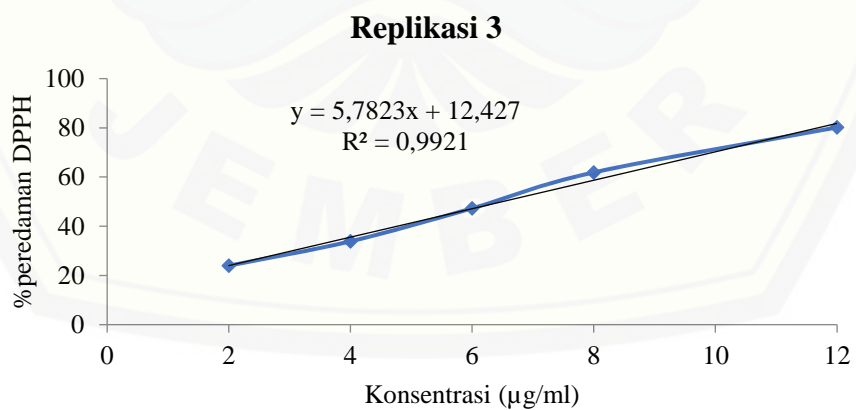
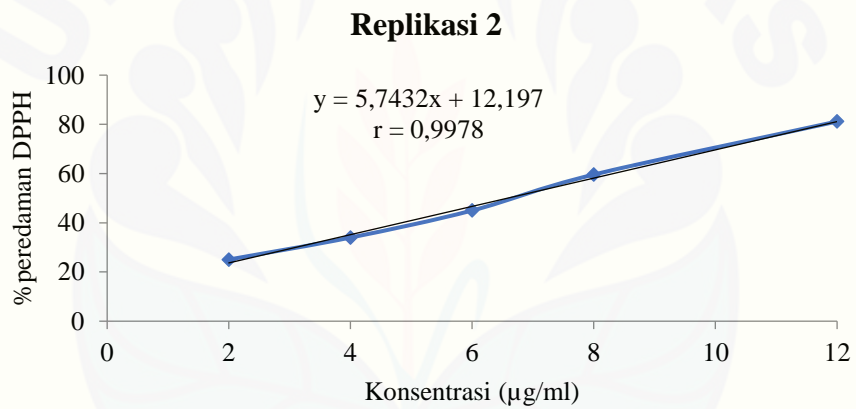
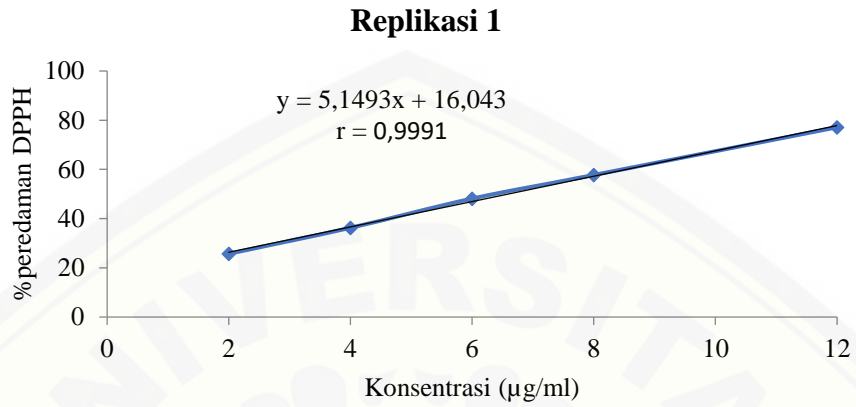
Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel	% Peredaman DPPH	IC <sub>50</sub>
2	0,918	0,698	23,965	6,498
4	0,918	0,607	33,878	
6	0,918	0,484	47,276	
8	0,918	0,350	61,873	
12	0,918	0,182	80,174	

Rata-rata IC<sub>50</sub> = 6,558  $\mu\text{g/ml}$ 

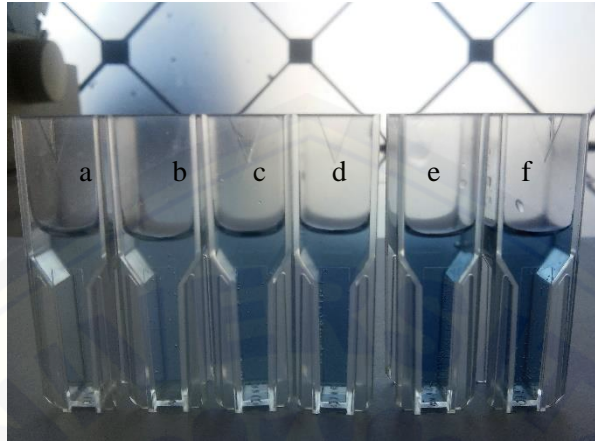
SD = 0,0525

RSD = 0,801%

- Regresi linier IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung



#### Lampiran 4.8 Pembuatan standar dan larutan uji



Gambar 4.12 Larutan uji kadar fenol total

Keterangan: Pengujian kadar fenol total asam galat; (a) 20,32  $\mu\text{g/ml}$  (b) 30  $\mu\text{g/ml}$  (c) 40,64  $\mu\text{g/ml}$  (d) 50,6  $\mu\text{g/ml}$  (e) 60  $\mu\text{g/ml}$  (f) 80  $\mu\text{g/ml}$

##### a. Pembuatan Standar Asam Galat

- Larutan induk 1 =  $\frac{25,4 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.016 \mu\text{g/ml}$
- Larutan induk 2 =  $\frac{25,00 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 1.000 \mu\text{g/ml}$

##### b. Pengenceran larutan induk

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

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 203,2 \mu\text{g/ml} = 20,32 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 203,2 \mu\text{g/ml} = 40,64 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,50 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 203,2 \mu\text{g/ml} = 50,60 \mu\text{g/ml}$$

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

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

$$\frac{6,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 100 \mu\text{g/ml} = 60 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{8,000 \text{ ml}}{10,00 \text{ ml}} \times 100 \mu\text{g/ml} = 80 \mu\text{g/ml}$$

## c. Pembuatan larutan uji

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi

Replikasi 1

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

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

Replikasi 2

$$\frac{20,40 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 816 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 816 \text{ } \mu\text{g/ml} = 81,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\frac{20,00 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

Replikasi 1

$$\frac{20,30 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 812 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 812 \text{ } \mu\text{g/ml} = 81,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

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

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

Replikasi 3

$$\frac{20,0 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung

Replikasi 1

$$\frac{20,10 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 804 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 804 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\frac{20,40 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 816 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 816 \text{ } \mu\text{g/ml} = 81,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

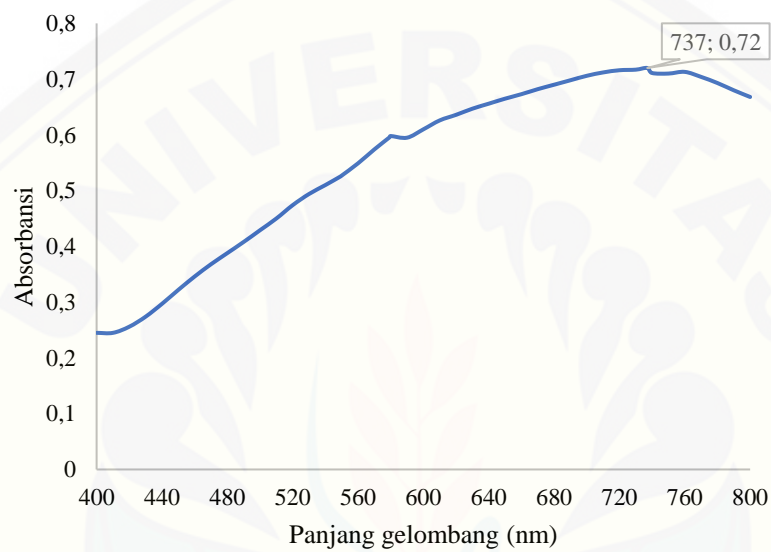
$$\frac{20,00 \text{ mg}}{25,00 \text{ ml}} = 800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,000 \text{ ml}}{10,000 \text{ ml}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/ml} = 80 \text{ } \mu\text{g/ml}$$



**Lampiran 4.9 Penentuan panjang gelombang penetapan kadar fenol total**

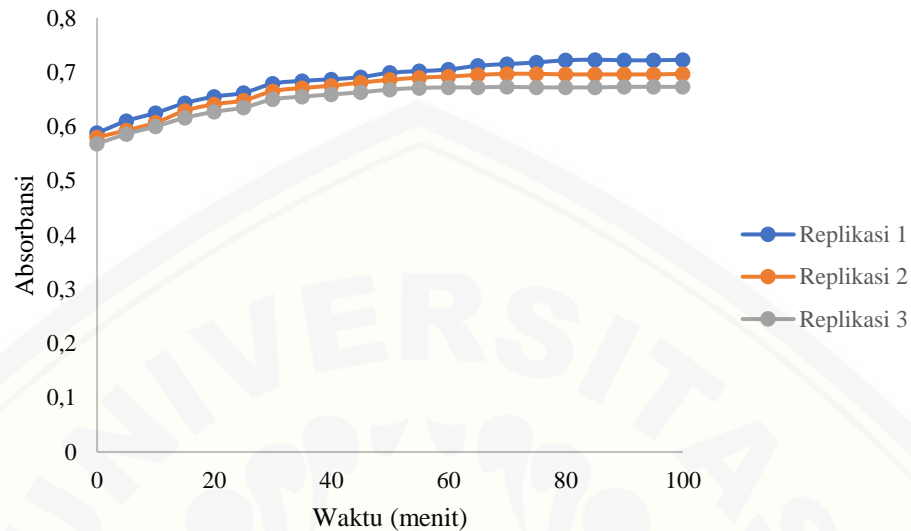
Data Mode : ABS  
Scan Range : 800,0-400,0 nm  
Slide Width : 4 nm  
Speed (nm/min) : 800 nm  
Lamp Change Wavelength : 340,0 nm



Gambar 4.1 Spektrum panjang gelombang serapan maksimum asam galat  
Keterangan: Spektra panjang gelombang maksimum asam galat terpilih, yaitu 737 nm

### Lampiran 4.10 Penentuan waktu inkubasi

#### a. Asam Galat

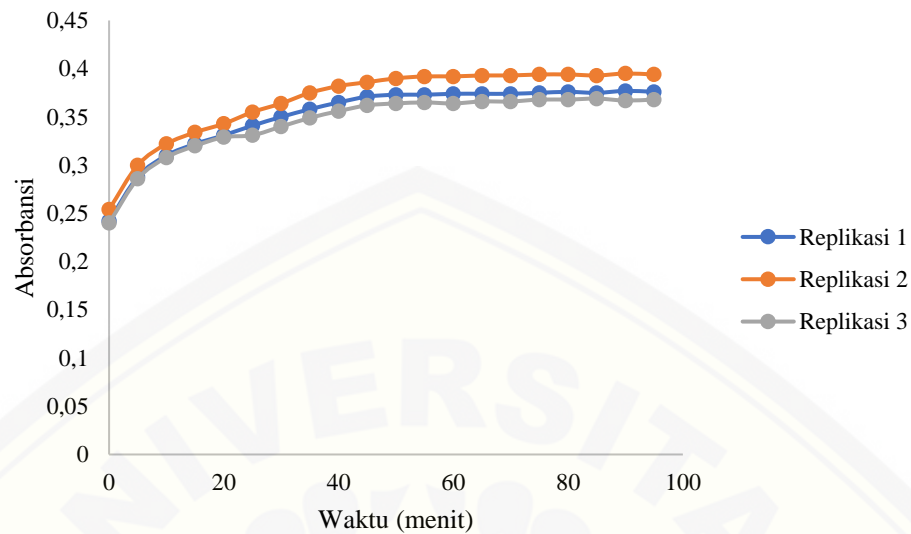


Gambar 4.13 Waktu inkubasi asam galat penetapan fenol total

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

Waktu (menit)	Replikasi 1 (7,5 µg/ml)	Replikasi 2 (7,5 µg/ml)	Replikasi 3 (7,5 µg/ml)
0	0,588	0,580	0,568
5	0,610	0,593	0,586
10	0,625	0,607	0,600
15	0,643	0,629	0,616
20	0,655	0,641	0,627
25	0,662	0,648	0,635
30	0,679	0,665	0,650
35	0,684	0,671	0,655
40	0,687	0,675	0,659
45	0,691	0,681	0,663
50	0,699	0,686	0,668
55	0,702	0,690	0,671
60	0,705	0,692	0,672
65	0,712	0,695	0,672
70	0,715	0,697	0,673
75	0,718	0,697	0,672
80	0,722	0,696	0,672
85	0,723	0,696	0,672
90	0,722	0,696	0,673
95	0,722	0,696	0,673
100	0,723	0,697	0,673

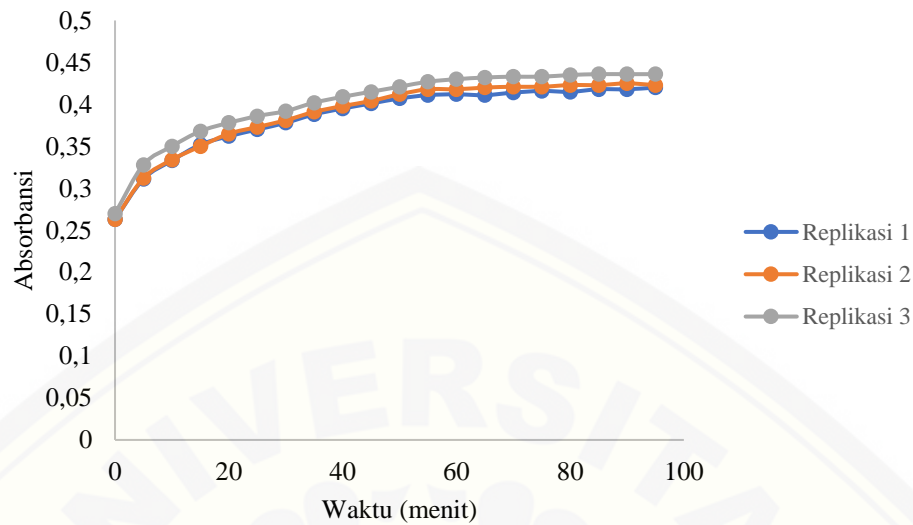
## b. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi



Gambar 4.14 Waktu inkubasi ekstrak benalu mangga manalagi penetapan fenol total  
Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga manalagi yang terpilih, yaitu 60 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (10,15 µg/ml)	Replikasi 2 (10,05 µg/ml)	Replikasi 3 (10,05 µg/ml)
0	0,242	0,254	0,24
5	0,288	0,301	0,286
10	0,310	0,322	0,308
15	0,322	0,334	0,321
20	0,331	0,343	0,329
25	0,341	0,355	0,331
30	0,35	0,364	0,341
35	0,358	0,375	0,349
40	0,365	0,382	0,356
45	0,371	0,386	0,362
50	0,373	0,390	0,364
55	0,373	0,392	0,365
60	0,374	0,392	0,364
65	0,374	0,393	0,366
70	0,374	0,393	0,366
75	0,375	0,394	0,368
80	0,376	0,394	0,368
85	0,375	0,393	0,369
90	0,377	0,395	0,367
95	0,376	0,394	0,368

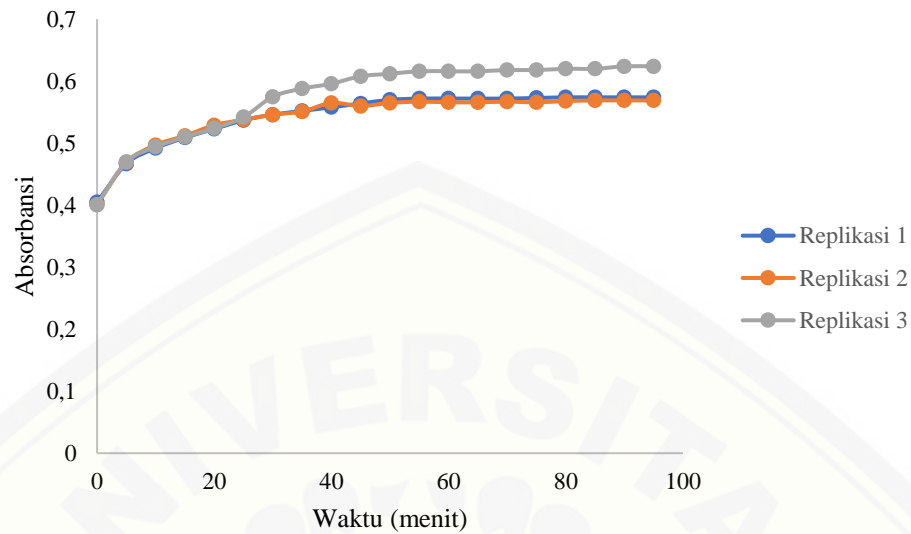
## c. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis



Gambar 4.15 Waktu inkubasi ekstrak benalu mangga arummanis penetapan fenol total  
Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga arummanis yang terpilih, yaitu 70 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (10,12 $\mu\text{g/ml}$ )	Replikasi 2 (10 $\mu\text{g/ml}$ )	Replikasi 3 (10,16 $\mu\text{g/ml}$ )
0	0,263	0,263	0,27
5	0,311	0,312	0,328
10	0,333	0,334	0,350
15	0,352	0,350	0,368
20	0,362	0,365	0,378
25	0,370	0,373	0,386
30	0,378	0,381	0,392
35	0,388	0,391	0,402
40	0,395	0,398	0,409
45	0,401	0,404	0,415
50	0,407	0,412	0,421
55	0,411	0,418	0,427
60	0,412	0,418	0,430
65	0,411	0,421	0,432
70	0,414	0,421	0,433
75	0,416	0,421	0,433
80	0,415	0,423	0,435
85	0,418	0,423	0,436
90	0,418	0,425	0,436
95	0,418	0,423	0,436

## d. Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung



Gambar 4.16 Waktu inkubasi ekstrak benalu mangga gadung penetapan fenol total  
Keterangan: Waktu inkubasi ekstrak etanol benalu mangga gadung yang terpilih, yaitu 60 menit.

Waktu (menit)	Replikasi 1 (10,16 µg/ml)	Replikasi 2 (10,12 µg/ml)	Replikasi 3 (10,32 µg/ml)
0	0,405	0,401	0,401
5	0,467	0,469	0,470
10	0,492	0,497	0,494
15	0,509	0,512	0,510
20	0,523	0,529	0,524
25	0,537	0,538	0,542
30	0,546	0,546	0,575
35	0,552	0,551	0,588
40	0,558	0,565	0,596
45	0,564	0,560	0,608
50	0,570	0,565	0,612
55	0,572	0,567	0,616
60	0,572	0,566	0,616
65	0,572	0,566	0,616
70	0,572	0,567	0,618
75	0,573	0,566	0,618
80	0,574	0,568	0,620
85	0,574	0,569	0,620
90	0,574	0,569	0,624
95	0,574	0,569	0,624

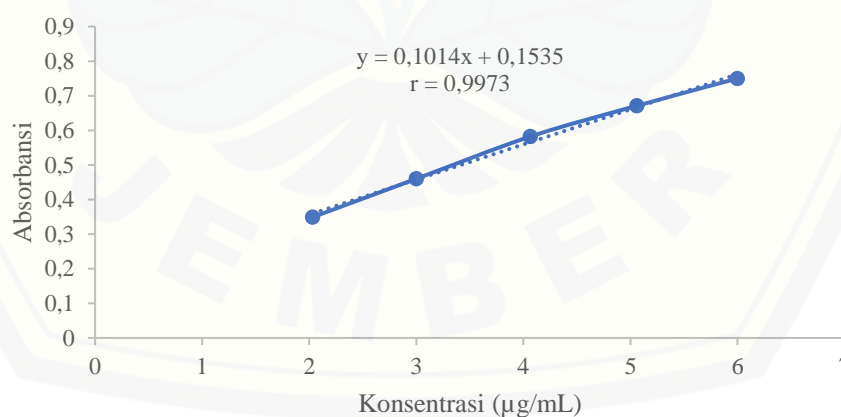
**Lampiran 4.11 Pengukuran kadar fenol total**

a. Hasil pengukuran kadar fenol total

Sampel	Kadar mg GAE/g Ekstrak	Rata-rata (mg GAE/g Ekstrak)	SD	RSD (%)
Ekstrak Etanol	240,97	237,314	4,438	1,870
Benalu Mangga	238,60			
Manalagi	232,38			
Ekstrak Etanol	280,22	282,869	3,440	1,216
Benalu Mangga	286,76			
Arummanis	281,63			
Ekstrak Etanol	360,10	358,203	4,445	1,241
Benalu Mangga	361,39			
Gadung	353,13			

b. Kurva baku standar asam galat

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Faktor pengenceran	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi
<b>20,32</b>	10	2,032	0,349
<b>30,00</b>	10	3,000	0,460
<b>40,64</b>	10	4,064	0,582
<b>50,6</b>	10	5,060	0,671
<b>60,00</b>	10	6,000	0,750



c. Perhitungan kadar fenol total sampel

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Manalagi

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 10 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
20,20	0,35	1,95	194,70	4,87	240,97
20,40	0,35	1,95	194,70	4,87	238,60
20,00	0,34	1,86	185,90	4,65	232,38

Rata-rata = 237,314 mg GAE/g sampel

SD = 4,4377

CV = 1,8699 %

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Arummanis

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 10 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
20,30	0,38	2,25	225,30	5,63	280,22
20,20	0,39	2,32	231,70	5,79	286,76
20,00	0,38	2,25	225,30	5,63	281,63

Rata-rata = 282,87 mg GAE/g sampel

SD = 3,439

CV = 1,216 %

- Ekstrak Etanol Benalu Mangga Gadung

Penimbangan (mg)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Konsentrasi dalam 10 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 25 ml (mg)	Kadar (mgGAE/g sampel)
20,30	0,45	2,92	292,40	7,31	360,10
20,20	0,45	2,92	292,00	7,30	361,39
20,00	0,44	2,83	282,50	7,06	353,13

Rata-rata = 358,20 mg GAE/g sampel

SD = 4,4447

CV = 1,2408 %

**Lampiran 4.12 Hasil analisis varian (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>)****Tests of Normality**

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DPPH kontrol positif vitamin c	.375	3	.	.775	3	.055
benalu inang manalagi	.271	3	.	.948	3	.559
benalu inang arummanis	.293	3	.	.922	3	.459
benalu inang gadung	.342	3	.	.844	3	.226

a. Lilliefors Significance Correction

Makna: Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

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

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.787	3	8	.534

Keterangan: data dikatakan homogen jika nilai  $p > 0,05$

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

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105.948	3	35.316	6.027E3	.000
Within Groups	.047	8	.006		
Total	105.995	11			

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok data jika  $p < 0,05$



## Multiple Comparisons

DPPH

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif vitamin c	benalu inang manalagi	7.4327667*	.0625023	.000	7.576897	7.288636
	benalu inang arummanis	6.6591000*	.0625023	.000	6.803231	6.514969
	benalu inang gadung	3.0973667*	.0625023	.000	3.241497	2.953236
benalu inang manalagi	kontrol positif vitamin c	7.4327667*	.0625023	.000	7.288636	7.576897
	benalu inang arummanis	.7736667*	.0625023	.000	.629536	.917797
	benalu inang gadung	4.3354000*	.0625023	.000	4.191269	4.479531
benalu inang arummanis	kontrol positif vitamin c	6.6591000*	.0625023	.000	6.514969	6.803231
	benalu inang manalagi	-.7736667*	.0625023	.000	-.917797	-.629536
	benalu inang gadung	3.5617333*	.0625023	.000	3.417603	3.705864
benalu inang gadung	kontrol positif vitamin c	3.0973667*	.0625023	.000	2.953236	3.241497
	benalu inang manalagi	4.3354000*	.0625023	.000	4.479531	4.191269
	benalu inang arummanis	3.5617333*	.0625023	.000	3.705864	3.417603

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

**Lampiran 4.13 Hasil analisis varian (ANOVA) fenol total****Tests of Normality**

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Fenol benalu inang manalagi	.280	3	.	.937	3	.516
benalu inang arummanis	.307	3	.	.903	3	.394
benalu inang gadung	.332	3	.	.864	3	.278

## a. Lilliefors Significance Correction

Makna: Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

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

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.217	2	6	.811

Keterangan: data dikatakan homogen jika nilai  $p > 0,05$

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

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22365.112	2	11182.556	654.285	.000
Within Groups	102.548	6	17.091		
Total	22467.659	8			

Keterangan: Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok data jika  $p < 0,05$

**Multiple Comparisons**

Total

Fenol

LSD

(I) benalu	(J) benalu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
benalu inang manalagi	benalu inang	-45.553333*	3.3755252E0	.000	-53.812946	-37.293721
	benalu inang gadung	-1.2089000E2*	3.3755252E0	.000	-129.149613	-112.630387
benalu inang arummanis	benalu inang manalagi	45.553333*	3.3755252E0	.000	37.293721	53.812946
	benalu inang gadung	-75.3366667*	3.3755252E0	.000	-83.596279	-67.077054
benalu inang gadung	benalu inang manalagi	120.8900000*	3.3755252E0	.000	112.630387	129.149613
	benalu inang arummanis	75.3366667*	3.3755252E0	.000	67.077054	83.596279

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