

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KERSEN (*Muntingia calabura L.*) DENGAN METODE 2,2-
difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)**

SKRIPSI



**Oleh:
ALGHIFARI
NIM.17040048**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI SEKOLAH TINGGI ILMU
KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER YAYASAN
PENDIDIKAN JEMBER INTERNATIONAL SCHOOL (JIS)
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KERSEN (*Muntingia calabura L.*) DENGAN METODE 2,2-
*difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Ilmu Sarjana Kefarmasian (S.Farm)



Oleh:
ALGHIFFARI
NIM.17040048

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI SEKOLAH TINGGI ILMU
KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER YAYASAN
PENDIDIKAN JEMBER INTERNATIONAL SCHOOL (JIS)
2021**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 24 Agustus 2021

Pembimbing I



apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

NIDN. 0509088601

Pembimbing II



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm

NIDN. 0703068903

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

hari :

tanggal :

tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua,



Arif Judi Susilo M. Kes
NIK. 196512171989031001

Penguji II,



apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm
NIDN. 0509088601

Penguji III,



apt. Lindawati Setvaningrum, M. Farm
NIDN. 0703068903



Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi,

Hella Meldy Tursifa, S.Kep.,Ns.,M.Kep
NIDN. 0706109104

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Hella Meldy Tursina ,S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti ,S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember
4. apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm selaku pembimbing I dan apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, motivasi dan perhatian serta dengan sabar membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.
5. Lulut Sasmito, Ns., M.Kes. selaku Ketua Penguji yang telah bersedia menjadi Dosen Penguji dan memberikan saran serta kritik yang membangun bagi skripsi penulis;
6. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa.

MOTTO

"Sesungguhnya manusia diciptakan bersifat keluh kesah lagi kikir. Apabila ia ditimpa kesusahan, ia berkeluh kesah. Apabila ia mendapat kebaikan, ia amat kikir, kecuali orang-orang yang mengerjakan shalat, yang tetap mengerjakan shalatnya".

Soekarno

"Kalau jadi hindu jangan jadi orang India, kalau jadi orang islam jangan jadi orang Arab, kalau kristen jangan jadi orang yahudi, tetaplah jadi orang nusantara dengan adat-budaya nusantara yang kaya raya ini"

K.H. Maimun Zubair

"Menyesali nasib tidak akan mengubah keadaan. Terus berkarya dan bekerjalah yang membuat kita berharga dengan apa yang kita capai."

KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Alghiffari

NIM : 17040048

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Dengan Metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) adalah benar benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 24 Agustus 2021

Yang



Nama : Alghiffari

NIM : 17040048

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KERSEN (*Muntingia calabura L.*) DENGAN METODE 2,2-
*difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)***

Oleh :

**ALGHIFFARI
NIM 17040048**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm

ABSTRAK

Alghiffari,* Hidayati, Sholihatil,** Setyaningrum, Lindawati ***. 2021. **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Daun Kersen (*Muntingia calabura L*). merupakan salah satu jenis tanaman dari familia *Malvales* yang mempunyai manfaat besar. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder, salah satunya adalah Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan. Ekstraksi senyawa pada daun salam dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*). Penentuan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang memiliki prinsip penurunan intensitas absorbansi DPPH yang sebanding dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dalam IC50 (Inhibition Concentration 50). Pengukuran absorbansi menggunakan Spektro UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm.

Penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) yang didapatkan dari daerah Kabupaten Probolinggo dengan nilai IC50 sebesar ?g/ml yang masuk rentan ganti oksidan sangat lemah.

Key words : Cherry leaf (*Muntingia calabura L*), Antioxidant activity, Flavonoid, DPPH, total IC50, UV-Vis Spectrophly.

*peneliti

**pembimbing 1

***pembimbing 2

ABSTRACT

Alghiffari,* Hidayati, Sholihatil,** Setyaningrum, Lindawati ***. 2021. **“Antioxidant Activity Test of Kersen (Muntingia calabura) Leaf Ethanol Extract. By DPPH Method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).** Essay. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.

Kersen leaf (*Muntingia calabura* L). is a type of plant from the Malvales family that has great benefits. This plant contains secondary metabolites, one of which is flavonoids. Flavonoids are antioxidant compounds. Extraction of compounds in bay leaves was carried out using the maceration method with ethanol.

This study aims to test the antioxidant activity of extracts of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L). Determination of the antioxidant activity test using the DPPH method which has the principle of decreasing the intensity of DPPH absorbance which is proportional to the increase in the concentration of antioxidant compounds expressed in IC₅₀ (Inhibition Concentration 50). Absorbance measurement using UV-VIS spectro with a wavelength of 517 nm.

This study shows that the antioxidant activity of Kersen Leaf (*Muntingia calabura* L) obtained from the Probolinggo Regency area with an IC₅₀ value of ?g/ml which is susceptible to oxidant replacement is very weak.

Key words : Cherry leaf (*Muntingia calabura* L), Antioxidant activity, Flavonoids, DPPH, total IC₅₀, UV-Vis Spectroscopy.

*researcher

**supervisor 1

***supervisor

2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya semata sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Dengan Metode DPPH “.

Penyusunannya dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dan bimbingan dari banyak pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku Ketua Universitas dr. Soebandi
2. apt. Dhina Ayu, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
3. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm. selaku pembimbing 1
4. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku pembimbing 2
5. Arief Judi Susilo, M.Kes selaku penguji
6. Wahyu Ferbri Nugroho selaku partner

Penulis menyadari hasil skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga akhirnya laporan hasil skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan dilapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Jember, 24 Agustus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL
HALAMAN JUDUL AWAL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian	8
1.5. Keaslian Penelitian.....	9
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Tinjauan Umum kersen(<i>Muntingia calabura L.</i>).....	10
2.1.1. Deskripsi dan Karakteristik Tanaman Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>) .	11
2.1.2. Klasifikasi Tanaman Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>)	13
2.1.3. Kandungan Kimia dan Manfaat Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	14
2.2. Tinjauan Umum Ekstrak	14
2.3. Tinjauan Umum Antioksidan.....	19
2.3.1. Pengertian Umum Antioksidan	19
2.4. Tinjauan Metode Uji Aktifitas Antioksidan.....	21
2.4.1. Pengertian Metode Uji Aktifitas Antioksidan	21
2.5. Tinjauan Instrumen Spektrofotometer UV -VIS.....	29
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL	39
3.1. Kerangka Konseptual	39
3.2. Hipotesis.....	40
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	41

4.1 Jenis Penelitian.....	41
4.2 Sampel Penelitian.....	41
4.3 Populasi Penelitian.....	41
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.5 Definisi Operasioanal.....	42
4.5.1 Variabel Penelitian	42
4.6 Teknik Dan Instrumen Pengumpulan Data.....	44
4.6.1 Alat Dan Bahan	44
4.6.2 Deterinasi Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	45
4.6.3 Pembuatan Simplisia Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	45
4.6.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	45
4.6.5 Skrining Fitokimia.....	46
4.6.6 Pengujian Aktifitas Antioksidan Dengan metode DPPH.....	48
4.7 Pengumpulan Data	50
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	55
5.1 Hasil determinasi Tanaman	55
5.2 Pengolahan Dan Pengambilan sampel	55
5.3 Ekstraksi	55
5.4 Skrining Fitokimia.....	55
5.5 Pengukuran Aktifitas Antioksidan	55
BAB 6. PEMBAHASAN PENELITIAN	62
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	70

DAFTAR TABEL

Tabel 1.4 Keaslian Peneliti.....	9
Tabel 4.5 Devinisi operasional.....	43
Tabel 5.3 Ekstraksi.....	56
Tabel 5.4 Skrining Fitokimia	56
Tabel 5.4.3 Pengukuran Kontrol Positif Quarcetin	58
Tabel 5.4.3 Hasil Pengukuran daun kersen dan Quarcetin	59
Tabel 5.4 Hasil IC 50 Ekstrak daun kersen dan Quarcetin.....	60
Tabel 5.5 Kurva IC 50 Ekstrak daun kersen dan Quarcetin.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Kersen.....	10
Gambar 2.1.4.6 Alat Refluk.....	16
Gambar 2.2 Antioksidan	17
Gambar 2.3 Pembentukan antioksidan.....	21
Gambar 2.4 Mekanisme DPPH.....	24
Gambar 2.5 Spektrometer UV-Vis (single beam).....	34
Gambar 2.5 Skema alat spektrometer UV-Vis (Single beam).....	34
Gambar 2.8 Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Double-beam).....	31
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	40
Gambar 4.1 Kerangka Operasional	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran.1 Hasil Determinasi Tumbuhan	75
Lampiran.2 Dokumentasi Penelitian	76
Lampiran.3 Skrining Fitokimia.....	80
Lampiran.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	82
Lampiran.5 Perhitungan DPPH.....	82
Lampiran.6 Perhitungan Larutan Ekstrak dan Quercetin.....	82
Lampiran 7 Perhitungan % Inhibisi	83
Lampiran 8 Grafik IC 50.....	88
Lampiran 9 Grafik Panjang Gelombang	92

BAB I.

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang sedang berkembang dalam berbagai bidang dimana mempunyai iklim tropis kaya akan sumber daya alam yang melimpah. Salah satu sumber daya alam adalah beraneka ragamnya jenis tumbuhan dimana banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari oleh manusia sebagai jenis obat baik secara sintesis maupun obat tradisional yaitu jamu (Fajar.,2014).

Resiko kesehatan pada manusia meningkat seiring dengan tingginya paparan radikal bebas yang berasal dari radiasi, asap rokok, polusi kendaraan dan pabrik, pestisida, obat-obatan, dan berbagai sumber radikal bebas lainnya. Ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Radikal bebas terlibat dalam penyakit *degenerative* seperti pathogenesis diabetes, kerusakan hati, inflamasi, kanker, gangguan jantung, gangguan syaraf dan proses penuaan (Onkar dkk., 2012). Oleh sebab itu, dibutuhkan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Winarsi., 2007).

Radikal bebas dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural meliputi molekul-molekul penyusun membran maupun komponen fungsional meliputi protein, enzim-enzim, dan DNA (Deoxyribonucleic Acid).

Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan, beberapa logam misalnya besi dan tembaga, asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet matahari yang menyebabkan radiasi. Reaktifitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh (Winarsi.,2007).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas tersebut. Antioksidan dapat diproduksi secara sintetik dan alami tetapi antioksidan sintetik memiliki efek toksik dibandingkan antioksidan alami (Shirmila dkk., 2013). Antioksidan termasuk senyawa pendonor electron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas radikal tersebut dapat terhambat. Ketidakstabilan radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron pada senyawa radikal bebas (Winarsi.,2007).

Menurut (Werdhasari., 2014) antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim–enzim yang bersifat antioksidan, seperti: Superoksida Dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathione peroksidase (GPx); serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, niasin, phycocyanin, dan lain–lain. Berbagai bahan alam, baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, mengandung berbagai antioksidan tersebut.

Manusia memiliki antioksidan dalam tubuh, namun jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dibagi menjadi 2 berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Contoh antioksidan sintetis adalah BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene), TBHQ (tertiary butylhydroquinone), dan PG (propyl gallate) (Widowati dkk., 2005). Beberapa contoh antioksidan sintetis tersebut dapat memiliki efek karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (Amarowicz dkk., 2000).

Antioksidan dari tumbuhan bekerja menghalangi kerusakan oksidatif dengan membentuk kelat dengan senyawa logam katalitik, dan menangkap oksigen (Khlifi *et al.*, 2005). Senyawa fenolik, tannin dan flavon merupakan senyawa utama yang berperan sebagai antioksidan (Sindhe *et al.*, 2013).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah daun kersen (*Muntingia calabura*). Kersen, banyak dijumpai di pinggir jalan, tumbuh di tengah retakan rumah, di tepi saluran pembuangan air dan tempat-tempat yang kurang kondusif untuk hidup karena kersen mempunyai kemampuan beradaptasi yang baik. Hasil penelitian uji fitokimia (Arum dkk, 2012), pada daun kersen terdapat adanya flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Pengambilan zat kimia dalam daun kersen tersebut dilakukan dengan ekstraksi prinsip maserasi dimana serbuk daun kersen direndam dalam pelarut tertentu. Isi sel akan larut karena perbedaan konsentrasi kemudian dilakukan penyaringan dan penguapan sehingga didapatkan ekstrak daun kersen (Zakaria *et al.*, 2007).

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Flavonoid mudah larut dalam air, terutama glikosidanya. Oleh karena itu senyawa ini berada dalam ekstrak air tumbuhan (Harbone, 1987). Sesuai dengan peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia No.HK.00.05.41.1384 tahun 2005 tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, OHT dan Fitofarmaka, pelarut yang diperbolehkan untuk mengekstraksi suatu bahan aktif adalah etanol dan air. Etanol adalah salah satu pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstraksi suatu senyawa aktif. Menurut (Liet.al.,2017) etanol memiliki kemampuan yang baik untuk mengekstraksi senyawa fenolik tanaman terestrial. Dibandingkan dengan metanol ataupun aseton, etanol lebih dipilih karena bersifat food grade dan pharmaceutical grade.

Pemilihan jenis daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai sampling dan pelarut etanol yang digunakan sebagai variasinya, karena jenis daun kersen ini banyak tumbuh di daerah Indonesia dan mudah ditemukan dimana-mana, namun belum banyak orang mengetahui manfaat dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai sumber antioksidan yang mudah di dapat. Kersen merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan (Kuntorini dkk., 2013). Hasil penelitian uji fitokimia pada daun kersen terdapat adanya flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin dan steroid (Arumdkk.,2012). Senyawa senyawa tersebut memiliki kemampuan sitotoksik yang dapat menghambat dan mereduksi radikal bebas (Handayani dkk., 2013).

Hal ini memungkinkan untuk dieksplorasi sebagai antioksidan alami. Menurut(Kuntorini dkk., 2013) penelitian tentang ekstrak metanol daun kersen mendapatkan hasil penetapan aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan Inhibition Concentracion (IC50). Nilai IC50 ekstrak metanol daun kersen muda sebesar 21,786 ppm, sedangkan untuk daun kersen tua sebesar 18,214 ppm, vitamin C sebesar 2,72 ppm dan BHT 5,36 sebesar ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kersen tua lebih kuat dibandingkan daun kersen muda, namun lebih lemah dibandingkan vitamin C dan BHT.

Berdasarkan penelitian tersebut di atas, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) menggunakan pelarut etanol. Penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar potensi antioksidan dari ekstrak etanol kersen (*Muntingia calabura L.*). Metode penelitian antioksidan ini menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometer UV-VIS. Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga menyebabkan DPPH menjadibentuk tereduksi yang bersifat nonradikal. DPPH dalam bentuk nonradikal akan kehilangan warna ungu. Pudarnya warna ini ditandai pula dengan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux., 2004). Metode ini sering digunakan karena bersifat sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan beberapa sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan

menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Hanani *et al.*, 2005).

Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (diphenylpicrylhydrazyl) menjadi senyawa yang tidak atau non-radikal (diphenylpicrylhydrazine) yang ditandai dengan larutan berubah menjadi warna ungu (Setiawan., 2018). Penggunaan metode DPPH karena prosesnya lebih cepat (tidak memerlukan waktu inkubasi yang lama), sederhana, dan tidak membutuhkan jumlah sampel yang banyak (Lung, 2017). Dengan nilai IC50 (Inhibisi konsentrasi 50%) yang memenuhi maka bisa dilihat dari hasil hambatan antioksidan terhadap radikal bebas sebesar 50% .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*) mempunyai aktivitas antioksidan?
2. Berapa nilai aktivitas antioksidan (IC50) pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*).
- b. Menganalisis nilai aktivitas antioksidan (IC50) pada ekstrak etanol dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan menggunakan metode DPPH.

1.3 Manfaat Penelitian

Dengan diadakan hasil penelitian ini diharapkan mendapat beberapa manfaat, Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

a) Manfaat bagi peneliti

Dapat diketahui berapa aktivitas antioksidan dan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan menggunakan metode DPPH.

b) Manfaat bagi institusi lain

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antioksidan baru dari bahan alami dan sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan.

c) Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberi informasi serta sumbangan pengetahuan bagi kemajuan dibidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan ekstrak etanol dari daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

1.4 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Marjoni., 2015	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan Sampel Daun kersen 	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunaka pelarut Air b) konsentrasi sampel yang berbeda beda
Kuntorini., 2013	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan metode DPPH b) Langkah- langkah penelitian 	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan preparat anatomi b) Menggunakan daun kersen muda c) Menggunakan pelarut metanol

BAB 2.

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum kersen (*Muntingia calabura L.*)

2.1.1 Deskripsi tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*)

Kersen termasuk ke dalam tumbuhan tahunan dengan tinggi mencapai 12 m. Batang tumbuhan ini berkayu, tegak, bulat dan memiliki percabangan simpodial. Percabangannya mendatar, menggantung ke arah ujung, berbulu halus, daun tunggal berbentuk bulat telur sampai lanset. Lembaran daunnya memiliki pangkal yang nyata dan tidak simetris dengan ukuran mencapai 14 cm x 4 cm, tepi daun bergerigi, bagian bawah berbulu (Haki., 2009; Tjitroseopomo., 2016) daun-daunnya terletak mendatar dan berseling (Gambar 2.1).



Gambar 2.1. Susunan daun kersen

Menurut penjelasan (Kosasih., dkk 2013), daun kersen berbentuk bulat telur dengan panjang mencapai 6,5 cm, tepinya gergerigi, ujungnya runcing, susunan berseling mendatar.

Hal ini sesuai juga dengan penjelasan (Tjitroseopomo.,2016) di dalam buku Morfologi Tumbuhan. Daun berwarna hijau muda dengan bulu rapat di permukaan bawah daun. Batangnya dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 12 cm, namun pada umumnya berkisar antara 1-4 m, percabangannya mendatar dan membentuk naungan yang rindang. Sedangkan bunganya berwarna putih terletak di ketiak sebelah kanan atas daun memiliki tangkai yang panjang, mahkota bertepi rata, bentuk telur bundar, jumlah benang sari nya banyak antara 10-100 belai. Buah kersen berbentuk bulat, rasanya manis, berwarna hijau pada waktu muda dan merah setelah matang dengan biji yang banyak seperti pasir. Bijinya berukuran 0,5 mm dan berwarna kuning (Kosasih dkl., 2013).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*)

Muntingia calabura L. yang dikenal dengan tumbuhan kersen atau seri. Di beberapa negara kersen dikenal dengan beberapa nama: datiles, aratiles, manzanitas (Filipina), khoom somz, takhob (laos), krakhop barang (Kamboja), kerup siam (Malaysia), capulin blanco, cacaniqua, niqwa, iguito (Spanyol), jamaican cherry, panama berry, singapore cherry (Inggris) dan japanese kers (Belanda) (Kosasih dkk., 2013). Tumbuhan ini memiliki buah kecil dan manis, berwarna hijau ketika masih muda dan berwarna merah setelah tua dan matang. Pohon kersen termasuk ke dalam tumbuhan liar yang rindang dan mudah berkembang biak walaupun pada suhu panas, tingginya mampu mencapai 12

meter. Pohon ini mudah dijumpai di sepanjang jalan sebagai penyerap polusi udara dan peneduh. Selain bermanfaat sebagai tumbuhan peneduh, kersen juga memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia (Laswatidkk., 2017).

Berikut merupakan klasifikasi ilmiah tanaman kersen :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Anak divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Anak Kelas : Dialypetalae

Family : Malvales/Columniferae

Ordo : Elaeocarpaceae

Genus : *Muntingia*

Spesies : *Muntingia calabura* L.

(Sari., 2012)

Pohon kersen termasuk ke dalam tumbuhan jenis neotropik yaitu tumbuhan yang hidup dengan baik dengan iklim tropis seperti Indonesia. Kersen berasal dari Filipina dan menyebar ke Indonesia sekitar abad ke-19, tumbuhan ini sangat mudah tumbuh dan liar sehingga sering digunakan sebagai tumbuhan peneduh karena memiliki daun yang rindang. Berdasarkan klasifikasi botani, kersen termasuk ke dalam famili Malvales (Rosandari dkk, 2011).

2.1.3.Kandungan Kimia dan Manfaat tanaman kersen

Tumbuhan kersen ini mengandung begitu banyak senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Daun kersen digunakan sebagai obat sakit kepala dan anti radang dikarenakan kandungan senyawa kimianya yang beragam yaitu; flavonoid, tannin, triterpenoid, saponin dan polifenol yang menunjukkan aktivitas antioksidatif dan antimikroba. Selain itu tumbuhan kersen sangat bermanfaat sebagai obat batuk, obat sakit kepala, antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antinosiseptik, antibakteri dan kardioprotektif. (Lim., 2012).

Di dalam 100 gram buah kersen mengandung lir (77,8 gr), protein 0,384 gr), lemak (1,56), karbohidrat (17,9 gr), serat (4,6 gr), abu (1,14 gr), kalsium (1,24 mg), fosfor (84 mg), besi (1,18 mg), karoten (0,019 gr), tianin (0,065 gr), riboflavin (0,037 gr), niacin (0,55 gr), dan vitamin C 80,5 mg) (Kosasih dkk., 2013). Kersen termasuk salah satu tumbuhan obat-obatan yang diduga memiliki substansi aktif sebagai anti diabetes yaitu asam askorbat, serat, niasin dan betakaroten (Verdayanti., 2009).

Menurut (Ujianto., 2011) menjelaskan bahwa kandungan gizi buah kersen tidak kalah dengan buah mangga. Kandungan vitamin C pada buah mangga sebesar 30 mg, sedangkan buah kersen sebesar 80,5 mg. Kandungan kalsium buah kersen mencapai 124,6 mg jauh lebih tinggi dibandingkan dengan buah mangga yaitu 15 mg. Di Indonesia, buah kersen dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati asam urat dengan cara mengkonsumsi 9 butir buah kersen 3 kali sehari dan terbukti dapat mengurangi rasa nyeri akibat asam urat. Kersen mengandung flavonoid yang terdiri dari berbagai jenis; flavon, flavonon, flavan, dan biflavan.

Senyawa kimia lainnya yaitu tannin, triterpene, polifenol yang berperan di dalam aktivitas antioksidan. Daun kersen memiliki senyawa fitokimia yang menunjukkan aktivitas antioksidatif dan antimikroba (Haki., 2009; Priharjanti., 2007; Zakaria dkk., 2011).

Menurut (Binawati., 2013) *di dalam* (Laswati., 2017), senyawa flavonoid ini berfungsi sebagai antimikrobia, antivirus, antioksidan, antihipertensi, merangsang pembentukan estrogen dan mengobati gangguan fungsi hati. (Haki, 2009) menjelaskan bahwa masyarakat Peru telah lama menggunakan tumbuhan kersen ini sebagai obat tradisional. Kersen sendiri adalah spesies tunggal dari genus *Muntingia*. Pemanfaatan kersen sebagai bahan obat-obatan dan pangan sendiri di Indonesia masih belum optimal karena dianggap tidak memiliki nilai ekonomis dan pengetahuan yang masih kurang tentang tumbuhan ini, padahal memiliki manfaat yang sangat tinggi (Vembriarto., 2014). Buah kersen sering dimanfaatkan sebagai selai jam fruit di negara Srilangka sebagai teman makan roti dan lainnya.

2.1.4 Tinjauan Umum Ekstrak

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif dari suatu campuran padatan dan/atau cairan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ini merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian tanaman obat, karena preparasi ekstrak kasar tanaman merupakan titik awal untuk isolasi dan pemurnian komponen kimia yang terdapat pada tanaman (Febrina., 2015). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani., 2014).

2.1.4.1 Macam-macam

Menurut Febrina (2015), ada beberapa cara metode ekstraksi yang paling umum digunakan yaitu maserasi, perkolasi, sokhletasi dan refluktasi. Pada penelitian ini memakai metode maserasi. Metode ini dipilih karena prinsipnya yang mudah dan sederhana.

2.1.4.2 Maserasi

Maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dipress untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu (Endarini, 2016)

Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan penggojogan/pengadukan, pengepresan dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini., 2016).

2.1.4.3 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel di basahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, selain itu metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan membutuhkan banyak waktu (Mukhriani., 2014).

2.1.4.5 Sokhletasi

Pada teknik ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (thimble) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat sokhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondenser. Embunan pelarut ini akan merayap turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini berlangsung secara terus-menerus (kontinyu) dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan (Endarini., 2016).

Keuntungan dari proses ini adalah sampel bagian tanaman terus menerus berkontak dengan embunan pelarut segar yang turun dari kondenser sehingga selalu mengubah kesetimbangan dan mempercepat perpindahan massa bahan aktif, suhu ekstraksi cenderung tinggi karena panas yang diberikan pada labu destilasi akan mencapai sebagian ruang ekstraksi, tidak memerlukan penyaringan setelah tahap leaching, kapasitas alat ekstraksi dapat ditingkatkan dengan melakukan ekstraksi secara kontinyu atau paralel karena harga peralatannya cukup murah dan dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Hal ini sangat menguntungkan jika ditinjau dari segi kebutuhan energi, waktu dan ekonomi. Kelemahan ekstraksi dengan sokhlet ini adalah jika dibandingkan dengan teknik ekstraksi yang lain maka teknik ekstraksi ini memerlukan ekstraksi yang panjang dan pelarut yang banyak (Endarini., 2016).

2.1.4.6 Refluktasi

Pada metode reflux, sampel di masukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu. Kerugian dari metode yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani., 2014)

Umumnya refluks dilakukan pada reaksi yang lambat terbentuk produk. Refluks dilakukan menggunakan seperangkat alat refluks. Dua bahan atau lebih yang akan direaksikan biasanya termasuk katalis dan batu didih dimasukkan ke dalam labu alas bulat (leher satu, dua atau tiga tergantung kebutuhan). Labu kemudian disambungkan dengan pendingin bola yang telah disambungkan dengan

selang untuk air pendingin. Setelah alat terpasang semua, labu dipanaskan sampai campuran mendidih. Uap pelarut atau uap campuran akan naik sampai pendingin bola, dan akan terkondensasi kembali ke dalam labu. Begitu seterusnya sampai beberapa menit atau beberapa jam sampai diperoleh hasil yang diinginkan (Supaya, 2019)



Gambar 2.5 Seperangkat alat refluks (Sumber: Supaya, 2019)

2.1.4.7 Pelarut

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan (Suryani, 2015).

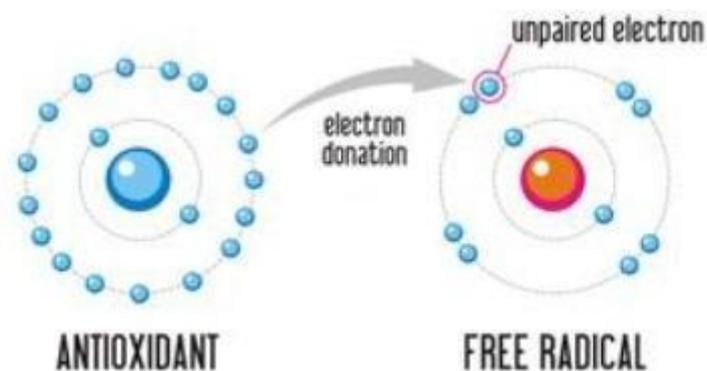
Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah etanol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Arifianti, 2014). Senyawa flavonoid bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar. Pelarut yang bersifat polar diantaranya adalah etanol, metanol, air

dan sebagainya (Mukhriani, 2014). Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama (Verdiana, 2018). Penggunaan jenis pelarut atau kekuatan ion pelarut dapat memberikan pengaruh terhadap rendemen senyawa yang dihasilkan (Kemit, 2016)

2.2 Tinjauan Umum Antioksidan

2.2.1 Pengertian Umum Antioksidan

Antioksidan dalam pengertian kimia, merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi., 2007).



Gambar 2.2 Antioksidan dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dalam tubuh (Tanti dkk.,2017)

Antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hidroxy aniline) dan BHT (butylated hidroxy toluen) telah diketahui memiliki efek samping yang besar

antara lain menyebabkan kerusakan hati (Kikuzakidkk., 2002). Di sisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan.

Menurut (Molyneux.,2004), antioksidan bereaksi dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 1,1-difenil- 2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh. Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai IC50 berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai IC50 berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC50 berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai IC50 berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Molyneux., 2004).

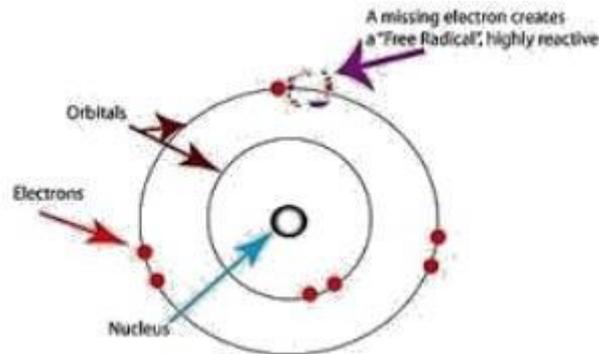
Salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan

karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman *et al.*, 2010).

2.3 Tinjauan Umum Radikal Bebas

2.3.1 Pengertian Umum Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit *neurodegenerative*, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Phaniendra, *et al.*, 2015). Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron (Rohman, 2006). Adanya elektron tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negative (anion) atau tidak bermuatan (netral).



Gambar 2.1.3 Pembentukan antioksidan

Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati (Silalahi, 2002). Radikal bebas terdiri dari *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Radical Nitrogen Species* (RNS), dan radikal lainnya. ROS atau radikal oksigen seperti $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} , ROO^{\bullet} , H_2O_2 , dan $1O_2$. RNS mencakup NO^{\bullet} , $-OONO$, dan $-OONO_2$. Ada juga radikal lain misalnya radikal thiil (RS^{\bullet}) (Punchard, 1996). Untuk menghindari hal tersebut, dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen. Radikal bebas dapat ditangkap menggunakan penangkapan radikal bebas *2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH).

Untuk mencegah terjadinya akumulasi radikal bebas yang menyebabkan perkembangan penyakit, diperlukan senyawa antioksidan untuk menetralkan, menurunkan dan menghambat pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh dengan menjadi pendonor elektron untuk radikal bebas sehingga menjadi elektron bebas dalam radikal bebas menjadi berpasangan dan menghentikan kerusakan dalam tubuh. Antioksidan dapat diproduksi secara endogen atau eksogen untuk membantu menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh di antaranya glutathione, ubiquinone, dan asam urat. Sementara antioksidan eksogen yang bersifat lebih ringan di antaranya vitamin C, E, dan beta karoten (Rao & Moller., 2011).

2.4 Tinjauan Metode Uji Aktivitas Antioksidan

2.4.1 Pengertian Umum Metode Uji DPPH

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan beberapa metode. Salah satunya adalah metode DPPH. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni., dkk., 2007).

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Nimse and Pal, 2015). Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Martiningsih., 2016).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Ahmad, 2012). Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas secara terus menerus terbentuk didalam tubuh, jika jumlahnya didalam tubuh sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasikan lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker (Astuti, 2009).

Nilai absorbansi yang diperoleh dihitung % inhibisi radikal bebas. Persamaan regresi dari hubungan antara konsentrasi sampel terhadap % Inhibisi radikal bebas digunakan untuk mencari nilai konsentrasi penghambat 50% (IC₅₀) aktivitas dari radikal bebas. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm (IC₅₀ < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC₅₀ < 100 ppm), sedang (100 ppm < IC₅₀ < 150 ppm), lemah (150 ppm < IC₅₀ < 200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ > 200 ppm) (Andriani dkk., 2011). Kelebihan metode DPPH ini adalah mudah dan cepat, sedangkan kelemahan dari metode DPPH hanya dapat memberikan informasi mengenai aktivitas senyawa yang diuji dan hanya dapat mengukur senyawa antiradikal yang terlarut dalam pelarut organik khususnya alkohol (Utomo dkk., 2013).

Analisis antioksidan merupakan pengukuran secara kuantitatif terhadap kemampuan suatu komponen sebagai agen pereduksi. Analisis antioksidan sendiri dibagi menjadi 2, yaitu: HAT (*Hydrogen Atom Transfer*) dan SET (*Single Electron Transfer*), meski keduanya terkadang muncul hampir selalu bersamaan, tetapi keduanya memiliki mekanisme yang berbeda. Berikut adalah perbedaan keduanya, yaitu :

1. HAT

Metode yang digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan yang digunakan dalam menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan atom H. Efektif digunakan untuk komponen fenolik dan dalam pengujiannya menggunakan senyawa pewarna yang merupakan suatu radikal bebas. Pada pengujian ditandai adanya aktivitas antioksidan dengan perubahan warna, dari yang berwarna menjadi tidak berwarna. Jika dibandingkan dengan metode SET, maka metode ini jauh lebih dominan. Contohnya adalah pengujian menggunakan metode ABTS dan *Hydroxyl radical scavenging assay*.

2. SET

Metode yang berbasis pada reaksi redoks. Antioksidan yang diuji akan bereaksi dengan agen oksidasi yang juga merupakan senyawa *fluorescence*. SET diukur dengan menggunakan spektrofotometer untuk mengukur perubahan warna yang berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan dalam sampel. Metode ini dipengaruhi oleh pH dan solven yang digunakan. Sedangkan pengukurannya berdasarkan pada perubahan warna yang terjadi, semakin besar perubahan warna maka semakin tinggi proses reduksi. Hal ini menandakan aktivitas antioksidan yang semakin besar pula. Contohnya adalah pengujian antioksidan menggunakan FRAP dan DPPH (Karadag *et al.*, 2009).

Berdasarkan kedua mekanisme analisis antioksidan tersebut, ditemukan bahwa jenis uji yang banyak digunakan adalah FRAP, DPPH, HORAC, dan ABTS. Maka, akan dilakukan pembahasan lebih lanjut mengenai metode analisis tersebut dan faktor yang mempengaruhi pengujian serta keuntungan dan kekurangan penggunaan analisis tersebut.

a) Metode Analisis FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)

FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ menjadi Fe(II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ sendiri adalah *colorants* dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kekuatan antioksidan yang diuji menggunakan FRAP, tidak perlu melibatkan perlakuan *pre-treatment*, karena dianggap konstan dan linear dengan hasil pengujian. Pada pengujian FRAP, idealnya sampel yang digunakan $>3000\mu\text{M}$ dan dilarutkan pada air ataupun ethanol, dan dilakukan uji pengulangan dengan pengenceran bertahap untuk pengukuran nilai FRAP. Proses pengujian dilakukan pada pH asam dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 593 nm, menggunakan *diode-array spectrophotometer* (Karadag *et al.*, 2009).

Metode ini sendiri dianggap dapat mengukur kombinasi efek antioksidan dari molekul biologi bukan enzim. Selain itu juga memberikan indeks kemampuan untuk mengurangi efek oksidatif dari radikal bebas. Biasanya uji digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada plasma dan fenol yang terekstraksi pada fasa aqueous atau methanol. FRAP mendeskripsikan hasil pengujian sebagai reaksi kinetik dan hubungannya dengan dosis dari larutan yang diuji, serta menunjukkan aktivitas antioksidan setara dengan yang terjadi dalam plasma tubuh (Lopez, 2012).

Selain itu, sama seperti metode pengujian lain, pengujian ini menggunakan antioksidan standar yang sudah diketahui kemampuannya sebagai pembanding atau kombinasi interaksi antar keduanya. Contohnya adalah asam askorbat, α -

tocopherol, dan bilirubin. Kelebihan dari penggunaan FRAP adalah cepat, cocok untuk sampel plasma (baik hanya dalam bentuk satu jenis antioksidan atau ketika bercampur dengan plasma), mudah, dan reagen mudah didapat. Berhubungan dengan karakteristik dosis (*dose dependent*) dari antioksidan yang akan berbeda bergantung dari aktivitas antioksidan dan jenisnya (Karadag *et al.*, 2009)

b) Metode Analisis ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

ABTS merupakan senyawa radikal kation organik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada pH 7,4 berdasarkan waktu dan persentase diskolorasi sebagai bagian dari fungsi konsentrasi. Aktivitas dari ABTS ditandai dengan perubahan warna yang terjadi dari biru atau hijau, menjadi tidak berwarna. Pengukuran ABTS dilakukan, untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam mendonorkan radikal proton, sehingga tercapai kestabilan. Kalorimeter digunakan untuk menghitung secara kuantitatif kemampuan antioksidan tersebut pada panjang gelombang 734nm.

Sama seperti pengukuran lain, pengukuran metode ini menggunakan antioksidan pembanding sebagai kurva standar, seperti *alpha-tocopherol*, *glutathione*, dan *uric acid*. Kelebihan pada penggunaan metode ABTS atau biasa disebut sebagai TEAC dianggap sebagai metode yang mudah, cepat, dapat digunakan baik pada fasa *aqueous* ataupun *lipid* (Karadag *et al.*, 2009).

c) Metode Analisis DPPH (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. (Vanselow., 2007).

Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Menurut (Widyastuti., 2010), metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika manusia bernapas terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Namun, reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Winarsi., 2007).

Menurut (Molyneux., 2004), antioksidan bereaksi dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 1,1-difenil- 2-pikrilhidrazin (DPPH) yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh. Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai IC50

berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai IC50 berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC50 berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai IC50 berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Molyneux., 2004).

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Molyneux., 2004) :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel})}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal (514 nm).

Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang maksimal (514 nm).

Uji aktivitas antioksidan ini ditemukan oleh (Blois., 1995), dimana dalam pengujian menggunakan DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl; $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$, $M=394.33$) yang merupakan radikal bebas yang bersifat stabil (Kedare&Sigh, 2011). Pada uji ini, DPPH akan bewarna ungu karena adanya delokalisasi, yang kemudian akan berubah warna menjadi kuning hydrazine ketika bereaksi dengan antioksidan dan mengalami proses reduksi. Proses reduksi terjadi karena adanya donor hidrogen dari substrat yang mengakibatkan warna ungu pada DPPH berkurang (Boligon *et al.*, 2014).

DPPH berfungsi dalam mengevaluasi potensi antioksidan dalam meredam radikal bebas (Praditasari, 2018). Dalam proses evaluasi antioksidan menggunakan uji DPPH, terdapat proses skrining yang bertujuan sebagai uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yaitu 515 nm. DPPH hanya larut dalam pelarut organik seperti methanol dan etil asetat, juga digunakan untuk pengujian antioksidan yang bersifat polar (Pyrzynska & Pekal, 2013; Nurjanah, Izzati, & Abdullah, 2011).

Selain itu, berdasarkan beberapa jurnal, karena sifatnya sebagai radikal bebas, uji DPPH dipengaruhi juga oleh: cahaya, pH, jenis pelarut, lama proses, ion organik, garam dan suhu. Konsentrasi aktivitas antioksidan yang diuji dengan menggunakan uji DPPH dinyatakan dengan parameter IC50 (berasal dari *inhibition concentration* IC50 atau biasdinyatakan sebagai *efficiency concentration* EC50), dimana angka ini menyatakan konsentrasi antioksidan yang digunakan dalam mengurangi konsentrasi DPPH sebanyak 50%. Semakin sedikit nilainya maka menyatakan bahwa semakin besar aktivitas antioksidannya, yang kemudian dikalkulasi dengan menggunakan *inhibition curve* (Mishra *et al.*, 2012).

d) Metode Analisis ORACOH* atau HORAC (*Hydroxyl Radical Activities*)

Pada umumnya, ORAC menggunakan pengukuran reaksi antioksidan dengan senyawa radikal bebas AAPH (2,2'-azobis-2-amidino-propane), dimana antioksidan akan transfer atom hydrogen untuk mereduksi radikal bebas. Aktivitas terjadi ketika adanya substitusi OH dengan struktur antioksidan yang diteliti. Banyak digunakan untuk pengujian pada sampel yang berbentuk plasma dan serum, tetapi tidak perlu ada proses *protein removal*. Metode ini dianggap sebagai sistem yang dapat menggunakan teknik area dibawah kurva dan mengkombinasikan hubungan antara waktu inhibisi dengan derajat inhibisi dari senyawa radikal oleh antioksidan. Dibandingkan dengan metode lain yang menggunakan waktu inhibisi pada waktu yang ditentukan sebagai hasil kuantitatif (Karadag *et al.*, 2009).

Prinsip dari metode ini adalah ketika radikal bebas, yaitu azo-initiator ditambahkan molekul berwarna atau *fluorescent* seperti β -phicoerythrin kemudian dipanaskan, azo-initiator akan menghasilkan radikal bebas peroksil yang merusak β -phicoerythrin sehingga kehilangan warnanya atau menjadi tidakberwarna. Kurva intensitas vs waktu yang area dibawahnya merupakan kalkulasi antara pengaruh penambahan atau tanpa penambahan antioksidan. Lalu dikomparasi dengan kurva standard menggunakan antioksidan (\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, yang merupakan vitamin E analog (Karadag *et al.*, 2009).

2.5 Tinjauan Instrumen Spektrofotometer UV-VIS

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada penelitian ini menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-VIS. *Spektroskopi UV-Vis* salah satu bentuk spektroskopi absorpsi. Pada cara ini cahaya atau gelombang elektromagnetik, dalam hal ini sinar UV-Vis, berinteraksi dengan zat kemudian diamati oleh absorpsi sinar. Sesuai dengan ukuran atau besarnya energi yang dimiliki oleh sinar UV-Vis interaksi hanya terjadi dengan kulit luar zat dan dari ini berasal nama “ Spektroskopi Elektronik” kedalam cara ini termasuk antara lain Kalometri, Fotometri, Spektrofotometri. Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energy elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisa kuantitatif dibandingkan untuk analisa kualitatif.

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang.

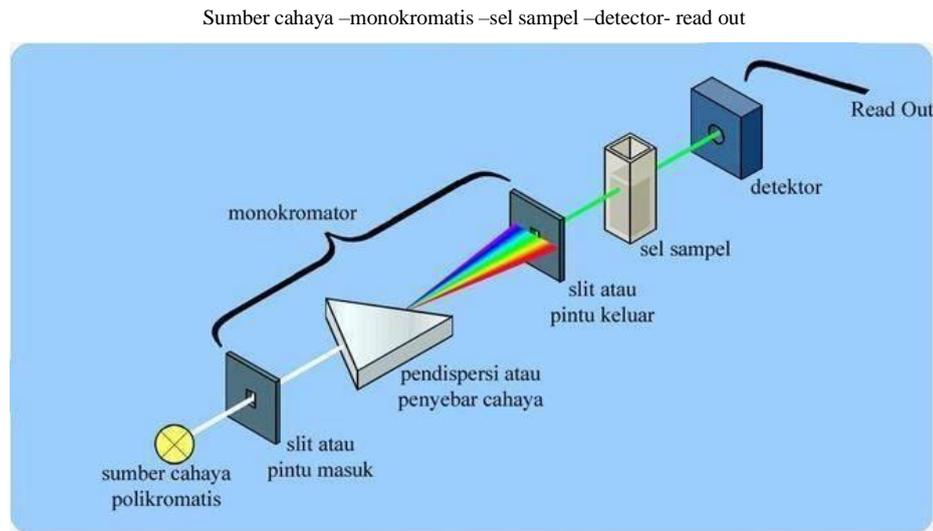
Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar.,2007).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki., 2012).

Spektrum absorpsi dalam daerah daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UVtampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat electron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energy tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas.,2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil.

Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S., 2013). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

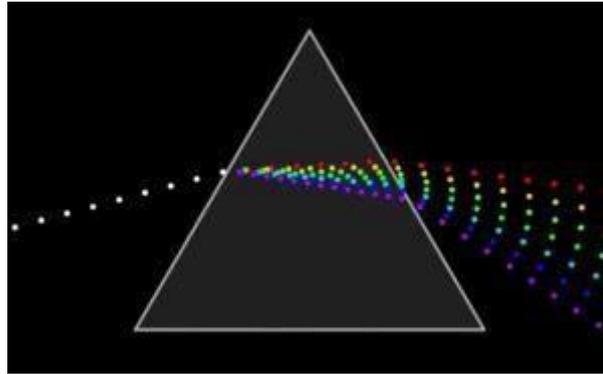


Gambar 1. Pembacaan spektrofotometer

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang

3. melewati pintukeluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti tertera pada gambar :



Gambar 2. Proses Dispersi atau Penyebaran cahaya

4. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV
VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.
5. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
6. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector.

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energy yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Jika sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan (db), maka penurunan intensitas sinar (dl) karena melewati lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi (I), konsentrasi spesies yang menyerap (c), dan dengan ketebalan lapisan larutan

(db). Secara matematis, pernyataan ini dapat dituliskan : $-dI = kIcdx$ bila diintegrasikan maka diperoleh persamaan ini :

$$I = I_0 e^{-kbc}$$

dan bila persamaan di atas diubah menjadi logaritma basis 10, maka akan diperoleh persamaan :

$$I = I_0 10^{-kbc} \text{dimana : } k/2,303 = a ,$$

maka persamaan di atas dapat diubah menjadi persamaan

$$\text{Log } I_0/I = abc \text{ atau } A = abc \text{ (Hukum Lambert-Beer)}$$

Dimana :

A = Absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

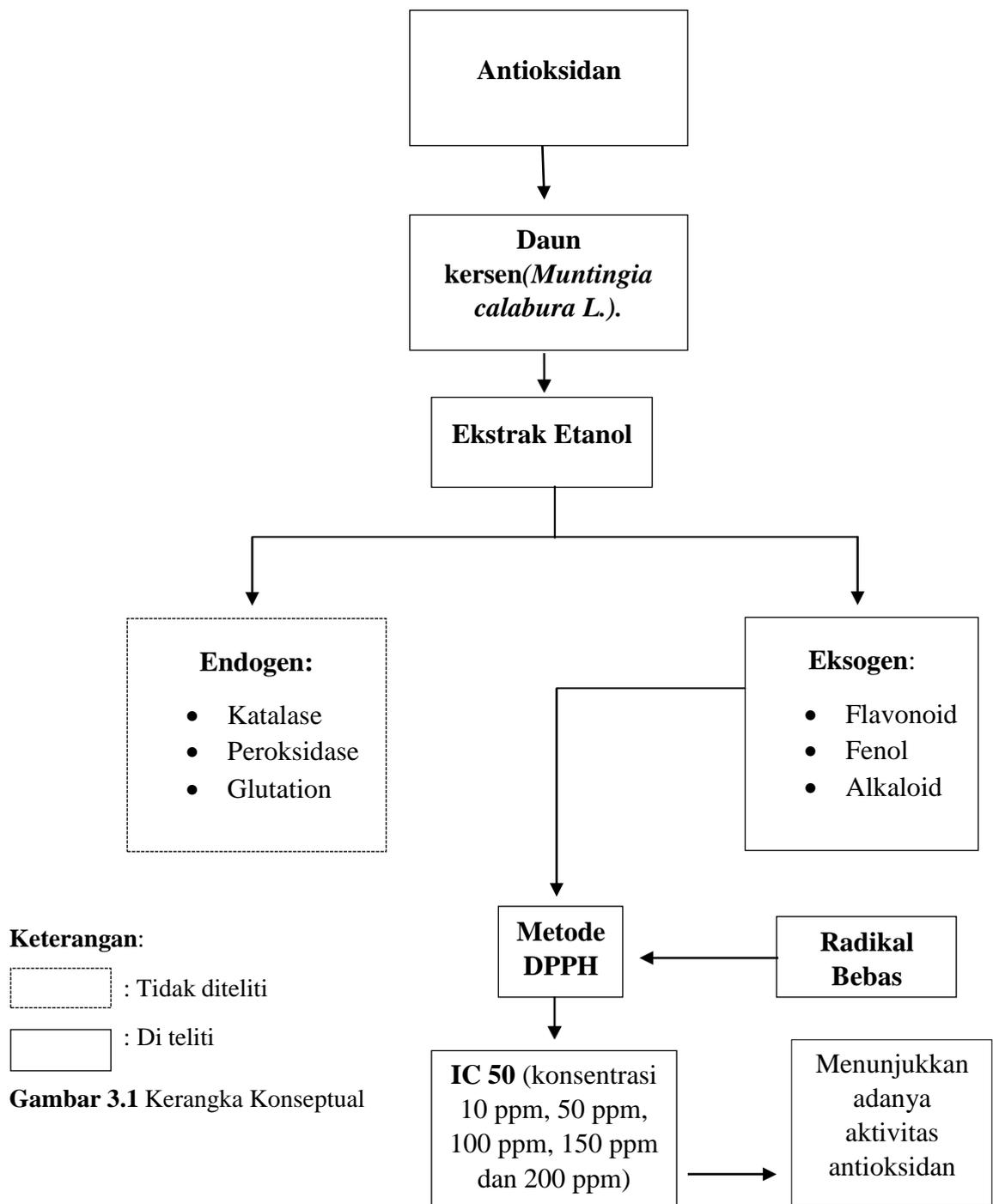
c = konsentrasi

Bila Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan (T) = I/I_0 maka dapat diperoleh $A = -\log T$. Absorptivitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Hariadi., 2013).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



3.3 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual diatas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah:

Hipotesi (H1) : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) merupakan penelitian *true experimental laboratories* dengan menggunakan metode *Diphenyl-picylhydriazol-radical* (DPPH).

4.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti (Arikunto., 2002). Pendapat yang senada pun dikemukakan oleh (Sugiyono., 2001) ia menyatakan bahwa sampel adalah sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi. Bila populasi besar, dan peneliti tidak mungkin mempelajari semua yang ada pada populasi, misalnya karena keterbatasan dana, tenaga dan waktu, maka peneliti dapat menggunakan sampel yang diambil dari populasi itu.

Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang telah dibuat berbagai macam konsentrasi.

4.3 Populasi Penelitian

Menurut (Sugiyono., 2001) menyatakan bahwa populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek/subjek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya.

Populasi pada penelitian ini menggunakan daun kersen (*Muntingia calabura L.*), yang di dapat dari desa Klenang Lor, Kec Banyuanyar. Kabupaten Probolinggo.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua laboratorium, yaitu Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi STIKES Dr. Soebandi Jember.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Variabel Penelitian

a) Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang digunakan.

b) Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC50.

c) Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode DPPH dan cara ekstraksi serbuk simplisia.

4.5.1 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Variabel	Pengetian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	HasilUkur
Aktivitas Antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada Sampel daun kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>) yang kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC50)	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum.	Spektro UV VIS	Skala Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> • Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 µg/mL • Kuat, Jika yang di dapat 50-100 µg/mL • Sedang, jika yang di dapat 101-150 µg/mL • Lemah, jika yang didapat >150µg/mL

Tabel 4.5.1 Definisi Operasional

4.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.6.1 Alat dan Bahan

a) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain destilator, spektrofotometer, rotary evaporator, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi, corong buchner, alatalat gelas , alumunium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, mikropipet, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

b) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang diambil di (belum ditentukan), kertas saring, etanol terdestilasi, metanol dan senyawa DPPH / 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil.

4.6.2 Determinasi Daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

Determinasi daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan. Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari (*Muntingia calabura L.*)

4.6.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

Pembuatan simplisia daun Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dilakukan berdasarkan metode yang tertera pada Depkes RI (2008). Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 60 dengan lebar nominal lobang 0,105 mm, garis tengahnya 0,064, dan ukurannya ukuran 250 µm.

4.6.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

Pembuatan ekstrak etanol Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) Proses pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Serbuk kering daun kersen ditimbang sebanyak 200 gram dimasukkan ke dalam wadah kaca lalu ditambahkan dengan 2,8 liter pelarut etanol, direndam selama 5 jam dengan diaduk menggunakan maserator. Hasil ekstraksi disaring menggunakan corong buchner, kemudian dilakukan remerasi dengan 2,5 liter etanol dan dilakukan pengadukan kembali selama 3 jam. Dilakukan penyaringan kembali, kemudian hasil filtrat maserasi pertama disatukan dengan hasil filtrat remerasi. Hasil filtrat yang diperoleh dikentalkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30-40°C, ekstrak cair yang diperoleh diuapkan menggunakan alat penangas air. Setelah dipekatkan dengan cara diuapkan kemudian diperoleh ekstrak kental (Sentat., 2016).

4.6.5 Skrining Fitokimia

4.6.5.1 Uji alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambah 2 mL HCl kemudian diaduk dandisaring. Filtrat ditambahkan 2 tetes HgCl₂. Apabila terbentuk endapan kuning jingga atau putih menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid (Rosalina., 2018)

4.6.5.2 Uji Fenolik

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Rosalina., 2018)

4.6.5.3 Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan metanol 4 mL kemudian dipanaskan. Filtratnya ditambahkan H₂SO₄. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid (Rosalina., 2018)

4.6.5.4 Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL air tambahkan 1 tetes HCl lalu di kocok selama 20 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa (tidak hilang selama 20 menit) maka menunjukkan adanya saponin (Rosalina., 2018).

4.6.5.5 Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 mg ditambahkan 10 mL air dan dididihkan selama 5- 10 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtratnya

ditambahkan FeCl₃. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Rosalina., 2018)

4.6.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a) Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol PA dalam labu tentukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya (Handayani., 2014; Najihudin., 2017)

b) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar panjang gelombang yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Untuk alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS. Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani., 2014).

c) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol PA sambil diaduk dan di homogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarutan ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat larut seluruhnya. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150

ppm dan 200 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan metanol hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Handayani, 2014)

d) Pembuatan Larutan Pembanding Quarcetin

Larutan pembanding Quarcetin, dibuat dengan ditimbang sebanyak 2 mg Quarcetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol Pa 5 ml dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi larutan Quarcetin 200 ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol PA sampai tanda batas (Fatoni., 2019)

e) Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum yang didapat mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-80 dengan selang waktu 5 menit (Handayani., 2014; Fatoni., 2019).

- f) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji ekstrak etanol Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dan Quarcetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan Larutan Quarcetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm. (Handayani.,2014)

- g) Perhitungan Nilai IC50

Nilai IC50 dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ Blanko} - A \text{ Sampel})}{A \text{ Blanko}} \times 100\%$$

A Blanko

(Rahmayani., 2013)

Keterangan :

A Blanko = absorbansi serapan radikal DPPH (blanko) pada panjang gelombang maksimum.

A Sampel = absorbansi serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum.

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC50 (Inhibitor Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 didapatkan dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dimasukkan kedalam aplikasi SPSS dengan cara analisis probit.

4.7 Pengolahan Data

Pengolahan data bertujuan untuk memperoleh penyajian data dan kesimpulan yang baik, data yang diperoleh dari penelitian masih mentah, belum dapat memberikan informasi, maka diperlukan pengolahan data (Notoatmodjo, 2010). Beberapa kegiatan yang dilakukan dalam pengolahan data, yaitu : editing, coding, skoring, processing, cleaning.

1. Editing

Editing adalah pemeriksaan atau koreksi data yang telah dikumpulkan. Pengeditan dilakukan karena kemungkinan data yang masuk (raw data) tidak memenuhi syarat atau tidak sesuai dengan kebutuhan. Pengeditan data dilakukan untuk melengkapi kekurangan atau menghilangkan kesalahan yang terdapat pada data mentah. Kekurangan dapat dilengkapi dengan mengulangi pengumpulan data atau dengan cara penyisipan (interpolasi) data. Kesalahan data dapat dihilangkan dengan membuang data yang tidak memenuhi syarat untuk dianalisis (Aedi, 2010)

2. Coding

Coding (pengkodean) data adalah pemberian kode-kode tertentu pada tiap-tiap data termasuk memberikan kategori untuk jenis data yang

sama. Kode adalah simbol tertentu dalam bentuk huruf atau angka untuk memberikan identitas data. Kode yang diberikan dapat memiliki makna sebagai data kuantitatif (berbentuk skor). Kuantifikasi atau transformasi data menjadi data kuantitatif dapat dilakukan dengan memberikan skor terhadap setiap jenis data dengan mengikuti kaidah kaidah dalam skala pengukuran (Aedi., 2010)

3. Skoring

Skoring adalah teknik analisis data kuantitatif yang digunakan untuk memberikan nilai pada masing-masing karakteristik parameter dari subsub variabel agar dapat dihitung nilainya serta dapat ditentukan peringkatnya (Gunawan, 2014)

4. Processing

Processing adalah proses memasukkan data ke dalam tabel dilakukan dengan program yang ada di komputer (Setiadi, 2007)

5. Cleaning

Cleaning merupakan teknik pembersihan data, data-data yang tidak sesuai dengan kebutuhan akan terhapus (Setiadi, 2013). Peneliti melakukan kegiatan pengecekan kembali terhadap data yang sudah di entry apakah ada kesalahan atau tidak dalam program perangkat komputer terdapat kesalahan atau tidak. Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel dengan cara analisis probit. Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategori (kualitatif) dan variabel-variabel

independen yang bersifat kualitatif maupun kuantitatif. Data diolah menggunakan analisa probit antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh IC50. Data nanti semua dimasukan ke dalam aplikasi Microsoft Excel, setelah proses dari aplikasi, kemudian data akan muncul yaitu persamaan linier. Persamaan linier digunakan untuk menghitung IC 50.

4.8SOP (Standar Operasional Prosedur)

Bahan dan Alt yang digunakan:

1. Bahan

Bahan yang digunakan, Simplisia yang mau diteliti antioksidannya, kertas saring, etanol terdestilasi, etanol PA dan senyawa DPPH / 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian inidestilator, spektrofotometer, rotary evaporator, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi, corong buchner, alatalat gelas, alumunium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, mikropipet, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Simpilisa

Pembuatan simplisia berdasarkan metode yang tertera pada Depkes RI (2008). Yaitu :

- Sortasi basah, Pencucian, PengeringanSortasi kering dan Pengecilan Ukuran

2. Pembuatan Ekstrak

dilakukan berdasarkan metode maserasi secara umum. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sejumlah bagian serbuk simplisia ditimbang kemudian dimasukkan dalam maserator, dan ditambahkan pelarut etanol terdestilasi perbandingan serbuk dan pelarut 1:10 selama 5 hari, dan dilanjutkan dengan remaserasi hingga diperoleh maserat yang jernih. Kemudian dipisahkan dengan rotary evaporator

3. Skrining Fitokimia

- Uji Alkaloid
- Uji Fenolik
- Uji Flavonoid
- Uji Saponin dan Uji Tanin

4. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

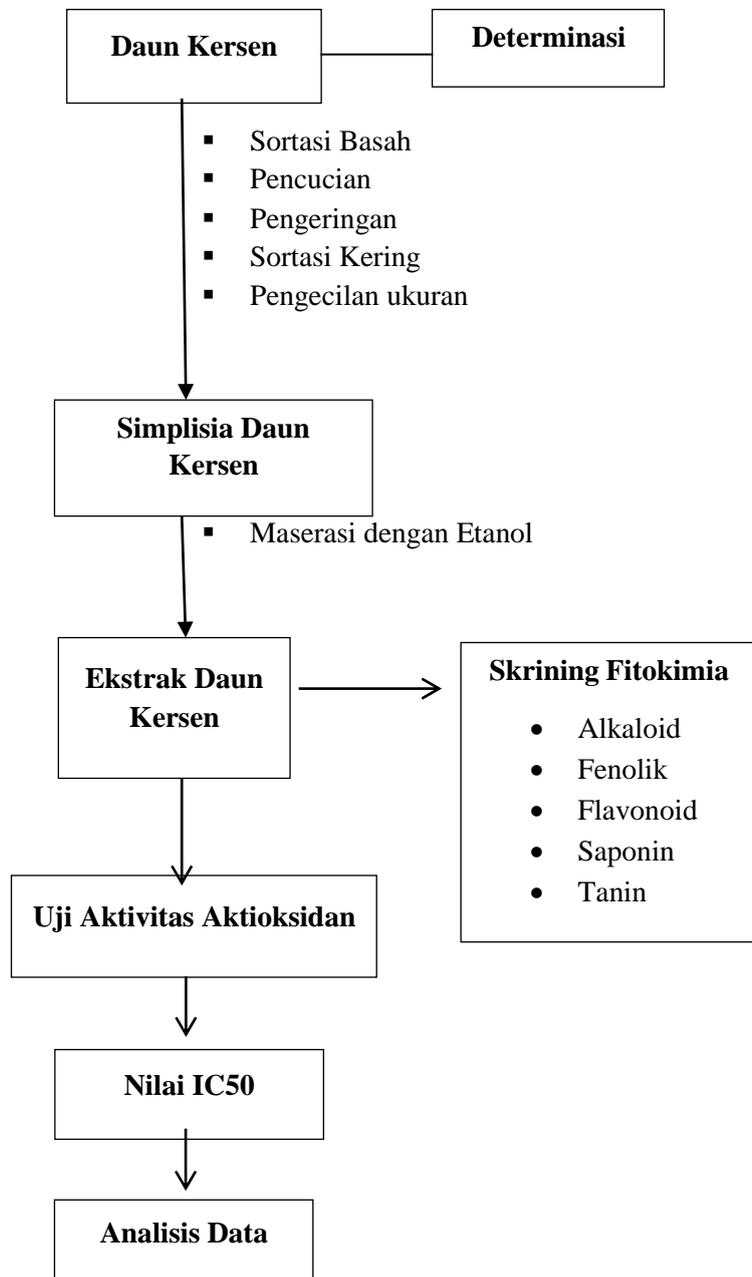
- Pembuatan Larutan DPPH
- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH
- Pembuatan Larutan Uji Ekstrak
- Pembuaatan Larutan Pembanding
- Optimasi Waktu Inkubasi
- Pengukuran Aktivitas Antioksidan dan Perhitungan Nilai IC50

5. Pengolahan Data

Menggunakan program aplikasi SPSS.

4.9 Kerangka Operasional

Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Kerangka Operasional

BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila daun kersen yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Muntingia calabura L* yang tergolong dalam suku *Elaeocarpaceae*. Hasil identifikasi daun kersen dapat dilihat pada (Lampiran 1) .

5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan acak di Kabupaten Probolinggo. Bagian yang digunakan dalam penelitian yaitu daun kersen. Tahap selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, dan proses pengecilan ukuran partikel sampai simplisia dihaluskan menjadi serbuk halus. Berat serbuk simplisia kering sebanyak 250 gram.

5.3 Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) dilakukan berdasarkan metode maserasi secara umum. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sejumlah bagian serbuk daun kersen (*Muntingia calabura L*) ditimbang 200 gram kemudian dimasukkan dalam maserator, dan ditambahkan pelarut etanol terdestilasi sebanyak 2 liter. serbuk dan pelarut di maserasi selama 3 hari, dan dilanjutkan dengan remaserasi 2 kali hingga diperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua

simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator di laboratorium CDAST (Center for Development of Advanced Science and Technology) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental. . Ekstrak etanol daun kersen yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 17,5gram dari 200 gram serbuk daun kersen (rendemen 44,1%). Perhitungan hasil % randemen dapat dilihat pada (Lampiran 4).

Tabel 5.1 Hasil ekstrak daun kersen

Simplisia	Ekstrak Kental	Rendemen
200g	39,4 g	44,1%

5.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, daun kersen memiliki golongan senyawa Fenolik, Flavonoid dan Tanin yang merupakan senyawa antioksidan.

Table 5. 1 Hasil Skrining

Senyawa	Hasil
Alkaloid	Negatif
Terpenoid atau Steroid	Positif
Flavonoid	Positif
Saponin	Negatif
Tanin	Positif

5.5. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

5.5.1. Penentuan Absorpsi Antioksidan

Pengujian dilakukan dengan memipet 4ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C padaruangan gelap. Diukur absorbansinya padapanjang gelombang 517 nm (Handayani, 2014). Hasil dari pengukuran absorbansi yaitu 0,773 hasil dari DPPH untuk blanko ekstrak daun Kersen dan 1,,132 untuk blanko Quercetin.

5.5.2. Pengukuran Absorbansi DPPH + Ekstrak

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan cara memipet 0, 5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517 nm yang dimulai dari menit ke0 hingga menit ke60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3

5.4.3. Pengukuran Kontrol positif Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0, 5 ml dari masing-masing larutan Kuaercetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3

Table 5. 2 Hasil Ekstrak Daun Kersen dan Quersetin

Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
DPPH			(0.773)	DPPH			(1,132)
Ekstrak daun Kersen	10	50	0.708	Quersetin	10	10	0.578
		100	0.646			20	0.394
		150	0.407			30	0.333
		200	0.376			40	0.297
		250	0.358			50	0.256
	20	50	0.707		20	10	0.576
		100	0.646			20	0.393
		150	0.406			30	0.331
		200	0.370			40	0.296
		250	0.357			50	0.253
	30	50	0.707		30	10	0.575
		100	0.621			20	0.392
		150	0.406			30	0.330
		200	0.373			40	0.295
		250	0.357			50	0.252
	40	50	0.705		40	10	0.574
		100	0.620			20	0.392
		150	0.405			30	0.329
		200	0.372			40	0.294
		250	0.356			50	0.250
	50	50	0.704		50	10	0.572
		100	0.619			20	0.391
		150	0.405			30	0.328
		200	0.372			40	0.293
		250	0.355			50	0.249
	60	50	0.703		60	10	0.571
		100	0.618			20	0.391
		150	0.404			30	0.327
		200	0.371			40	0.292
		250	0.354			50	0.248

Table 5. 3 Hasil Ekstrak Daun Kersen dan Quersetin

	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50 (ppm)	Quersetin	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50 (ppm)
Ekstra k Daun Kersen	10	50	8,4	208,7		10	10	48,9	45,129
		100	16,4				20	65,1	
		150	47,3				30	70,5	
		200	51,3				40	73,7	
		250	53,6				50	77,3	
	20	50	8,5	207,8		20	10	49,2	44,484
		100	16,4				20	65,2	
		150	47,4				30	70,7	
		200	51,4				40	73,8	
		250	53,8				50	77,6	
	30	50	8,5	210,8		30	10	49,2	44,235
		100	19,4				20	65,3	
		150	47,4				30	70,8	
		200	51,7				40	73,9	
		250	51,4				50	77,7	
	40	50	2,9	205,4		40	10	49,2	43,906
		100	19,7				20	65,3	
		150	47,6				30	70,9	
		200	51,8				40	74,0	
		250	53,9				50	77,9	
	50	50	8,9	205,6		50	10	49,4	43,556
		100	19,9				20	65,4	
		150	47,6				30	71,0	
		200	51,87				40	74,1	
		250	54,0				50	78,0	
	60	50	9,05	204,5		60	10	49,5	43,291
		100	20,0				20	65,4	
		150	47,7				30	71,1	
		200	52,0				40	74,2	
		250	54,2				50	78,0	

Untuk IC50 Ekstrak paling rendah di dapatkan nilai: 204,5 g/ml yang didapatkan dari persamaan $y = 0,2308x - 3,393$. Sedangkan untuk IC 50 Kuersetin paling rendah di dapatkan nilai: 16,0 g/ml yang didapatkan dari persamaan $y = 0,6799x + 20,605$.

Tabel 5.4 Nilai IC 50 Ekstrak Daun Kersen dan Quersetin

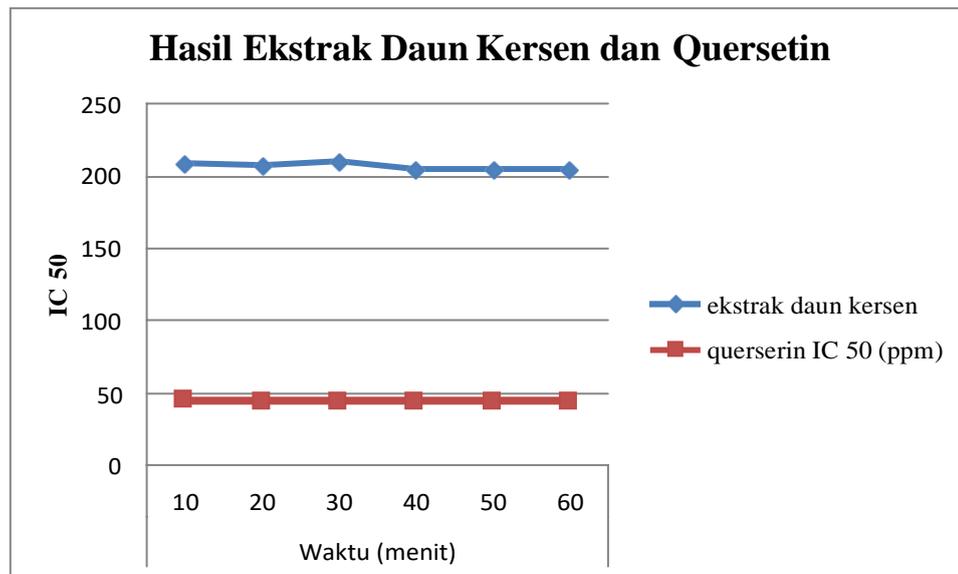
Sampel	Nilai IC50	Aktivitas Antioksidan
Ekstrak daun Kersen	204,5 g/ml	Sangat lemah , IC50= >200 g/ml
Quersetin	16,0 g/ml	Sangat kuat , IC50= <50 g/ml

Aktivitas antioksidan yang kuat ditandai dengan nilai IC 50 yang kecil, untuk itu semakin kecil nilai IC 50, semakin kuat juga aktivitas antioksidan nya, dan sebaliknya apabila nilai IC 50 semakin besar berarti menandakan aktivitas antioksidan nya lemah. Pada warna juga bisa diketahui aktivitas antioksidan nya. Semakin kuning warna yang dihasilkan semakin poten aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Pada warna DPPH berwarna ungu apabila tercampur senyawa yang mengandung senyawa antioksidan lama kelamaan akan berwarna kuning. Pada penelitian ini, ketika larutan sampel dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna dari ungu ke kuning tidak terlalu signifikan, ditandai dengan warna ungu pekat DPPH yang sedikit memudar menjadi ungu encer.

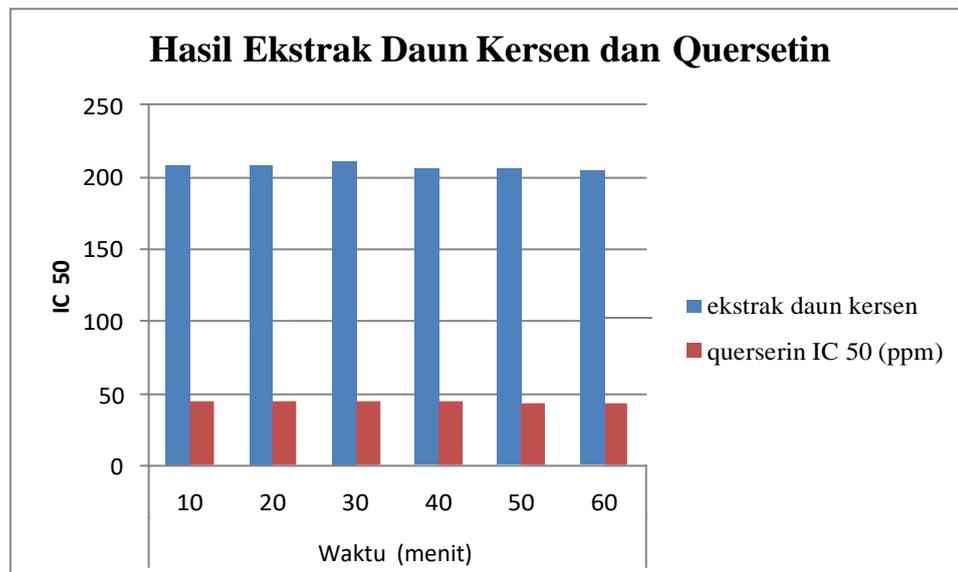
Sedangkan larutan sampel dengan konsentrasi 200 ppm dan 250 ppm direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna sangat signifikan, ditandai dengan warna ungu pekat DPPH kemudian berubah menjadi warna kuning encer. Untuk larutan kuersetin dengan masing-masing konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm, yang direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna sangat signifikan yang ditandai dari warna ungu pekat DPPH menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena kuersetin berupa isolat yang hanya terdiri

satugolongan senyawa saja dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangatkuat (Locatelli dkk., 2009).

Tabel 5.5Kurva IC 50 Ekstrak Daun Kersen dan Quersetin



Tabel 5.5Kurva IC 50 Ekstrak Daun Kersen dan Quersetin



BAB 6

PEMBAHASAN PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahapan penelitian yang diantaranya yaitu dimulai dari pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan ekstrak, pembuatan larutan Quersetin, pengukuran aktivitas antioksidan. Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Universitas dr. Soebandi Jember. Pengukuran absorbansi dilakukan di ruang Instrumen Universitas dr. Soebandi Jember dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometri UV-Vis Shimadzu UV-1900i dengan serial nomor A125357.

Tahapan pertama yaitu pembuatan simplisia. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang didapat dari desa Klenang Lor, Kec Banyuwanyar, Kabupaten Probolinggo yang telah dipetik, dicuci, dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup untuk dipakai pada perlakuan selanjutnya.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia. Metode maserasi merupakan proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolitsekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik

dan ekstrak senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Hasrianti., 2017).

Prinsip maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam cairan penyari yang sesuai selama sehari atau beberapa pada temperatur kamar terlindungi dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berlangsung sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengaduk dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Keuntungan dari metode ini ialah peralatannya yang sederhana, sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstrak sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks, dan lilin (Hasrianti., 2017).

Ekstrak daun kersen dibuat dengan mengekstraksi 150gram serbuk daun kersen secara maserasi dengan pelarut etanol hingga terekstraksi sempurna. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 86% sebanyak 500 mL selama 2 x 24

jam sambil sesekali diaduk. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol daun kersen yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 17,49 gram dari 150 gram serbuk daun kersendan diperoleh % rendemen sebanyak 24,7 %. Rendemen merupakan nilai berat ekstrak kental yang diperoleh dibandingkan dengan berat simplisia atau serbuk awal (Fatoni., 2019).

Penetapan aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH (*2,2 difenil-1- pikrihidrazil*) merupakan metode uji aktivitas antioksidan menggunakan reagen DPPH yang berperan sebagai radikal. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas (Wulansari, 2018). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Wijaya, 2014).

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani, 2014). Hasil dari pengukuran absorbansi adalah 0,773 untuk DPPH (Ekstrak) dan 1,132 untuk DPPH (Quersetin). Hasil absorbansi DPPH berbeda karena setiap sampel dan pembanding menggunakan larutan DPPH baru, kemudian juga bisa karena faktor cahaya, karena DPPH tidak stabil dalam cahaya namun stabil untuk suhu ruang. Untuk itu cara mengatasinya yaitu dengan cara diletakkan di tempat yang kurang cahaya atau gelap.

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 3,5 mL DPPH dengan 0,5 mL larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui nilai absorbansinya. Data absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Data inhibisi dengan konsentrasi sampel kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC₅₀) dilakukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ pada persamaan regresi linier.

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 3,5 mL DPPH dengan 0,5 mL larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui nilai absorbansinya. Data absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Data inhibisi dengan konsentrasi sampel kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC₅₀) dilakukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ pada persamaan regresi linier.

Pada penelitian uji aktivitas daun kersen didapatkan hasil perhitungan IC₅₀ yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 9,05%, untuk 100 ppm sebesar 20,0%, untuk 150 ppm sebesar 47,7 %, untuk 200 ppm sebesar 52,0 % dan 250 ppm sebesar 54,2%. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar

didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC50, dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan: $y = bx + a$. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0,2308x - 3,393$, Untuk penentuan nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC50 = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC50: 208,7 g/ml yang termasuk golongan antioksidan sangat lemah. Rentang $IC50 = > 200$ g/ml merupakan aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Aktivitas antioksidan yang sangat lemah pada daun kersen (*Muntingia calabura L*). Kemungkinan disebabkan karena beberapa faktor diantaranya: suhu yang terlalu panas pada saat proses pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*, yakni pada suhu 55°C, sehingga membuat kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak daun kersen yang mana berpotensi sebagai antioksidan menjadi berkurang, selanjutnya kemungkinan disebabkan karena pada saat pengeringan simplisia, dijemur dibawah sinar matahari langsung, tidak dengan cara diangin-anginkan. Berdasarkan hal tersebut, membuat hasil perhitungan IC50 menunjukkan nilai 208,7 g/ml yang termasuk golongan antioksidan yang sangat lemah.

Pada penelitian ini digunakan Quersetin sebagai pembanding untuk mengetahui bahwa metode yang digunakan telah benar. Quersetin merupakan salah-satu golongan senyawa flavonoid yang sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Locatelli dkk., 2009). Pada penelitian uji aktivitas Quersetin didapatkan hasil perhitungan IC50 yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 10 ppm mempunyai nilai %

inhibisi sebesar 49,5 %, untuk 20 ppm sebesar 65,4 %, untuk 30 ppm sebesar 71,1 %, untuk 40 ppm sebesar 74,2 % dan 50 ppm sebesar 78,0 %. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC₅₀, dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan: $y = bx+a$. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0,6799x + 20,605$. Untuk penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu nilai IC₅₀ = 19,8g/ml yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat. Rentang IC₅₀ < 50 g/ml merupakan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Quarsetin memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi daripada ekstrak. Hal ini disebabkan karena Quersetin berupa isolat yang hanya terdiri satu golongan senyawa saja dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Locatelli dkk., 2009). Aktivitas antioksidan pada ekstrak cenderung lebih rendah jika dibandingkan dengan quersetin. Hal ini disebabkan karena ekstrak terdiri dari berbagai golongan senyawa yang aktivitas antioksidan yang belum diketahui.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- 7.1.1 Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 86% daun kersen (*Muntingia calabura L*) sangat lemah.
- 7.1.2 Nilai IC50 ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai yang diperoleh sebesar 208,7 g/ml.
- 7.1.3 Hasil perbandingan nilai IC50 ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) dengan Quersetin dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dibandingkan kuersetin.

7.2 Saran

- 7.2.1 Sebaiknya dalam melakukan pengentalan ekstrak, perlu memperhatikan suhu yang dipakai pada saat menggunakan *rotary evaporator*, jangan sampai terlalu panas agar kandungan senyawa pada ekstrak tidak hilang.
- 7.2.2 Sebaiknya dalam proses pengeringan simplisia, perlu memperhatikan lokasi, jangan dijemur dibawah sinar matahari langsung, cukup diangin-anginkan saja.
- 7.2.3 Sebaiknya dalam pengenalan simplisia diharapkan masyarakat bisa sadar bahwa tanaman ini memiliki banyak khasiat.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, untuk mendapatkan hasil yang lebih baik

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R., Munim, A., & Elya, B. (2012). Study of antioxidant activity with reduction of free radical DPPH and xanthine oxidase inhibitor of the extract *Ruellia tuberosa* Linn Leaf. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(11).
- Arikunto, S., 2006, *Prosedur Penelitian: Suatu Pengantar Praktik*, Jakarta: Rineka Cipta.
- Andriani Y, Wahid MEA Muhammad TST and Mohamad H, January 2011, Antibacterial, Radical – Scavenging Activities and Cytotoxicity Properties of *Phaleria macro-carpa* (Scheff.) Boerl leaves In HEPG2 Cell Lines *International Journal of Pharma-cetical Science and Research*, Voume 2, Issue 7 ISSN: 0975-8232.
- Arum, YP.Supartono dan Sudarmin. 2012. *Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura)*. *Jurnal MIPA* 35 (2): 165-174.
- Astuti, Y.N. (2009). Uji aktivitas penangkap radikal DPPH oleh analog kurkumin monoketon dan n-heteroalifatik monoketon. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Azwanida. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- BPOM, 2010. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, BPOM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- DepKes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Ekayatun dkk. 2010. Jakers (jam kersen) sebagai alternative obat asam urat PKM gagasan tertulis. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Endarini, L.H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan
- Fatoni, G. (2019). *Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode Dpph Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Kabupaten Lumajang*. Tugas Akhir. Progam Studi Farmasi Universitas Jember.

- Fajar Budi Laksono, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Isolasi dan Uji Antibakteri Senyawa Terpenoid Ekstrak N-Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 2, (2014) 37-42
- Febriyenti, N. Suharti, H. Lucida, E. Husni, dan O. Sedona. 2018. Karakterisasi dan studi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5(1):23–27.
- Febrina, L., Rusli, R., Muflihah, F. (2015). *Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (Ficus Variagate Blume)*. J. Trop. Pharm. Chem. Vol 3. No. 2. Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.
- Gray, A. I. 2012. *Natural Products Isolation Second Edition*. Edisi second. United Kingdom: Human Press.
- Haki, M. 2009. Efek ekstrak daun Talok (*Muntingia calabura* L.) terhadap aktivitas enzim SGPT pada mencit yang diinduksi karbon tetraklorida. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Handayani, V., Ahmad, A., Sudir, M. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (Etilingera Elatior (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH*. Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar. Pharm Sci Res ISSN: 2407-2354
- Handa Muliasari, Candra Dwipayana Hamdin, M. I. 2017. Histologi pankreas tikus diabetes setelah pemberian suspensi biji buah makasar (*Brucea javanica* L. merr). *Ilmiah Ilmu Biologi*. tiga(October 2018):115–118.
- Heinrich M, Barner J, Gibbons S, Williamson EM. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;2009.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M. 2002, Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound, *J. Agric.Food Chem*, pp. 50:2161- 2168.
- Kosasih, E., Supriatna, N., Ana, E. 2013. Informasi singkat benih kersen/talok (*Muntingiacalabura*L.). Balai pembenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura.
- Kuntorini, E, Mintowati, Setya dan Maria. 2013. *Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun kersen (Muntingia calabura)*. Program Studi Biologi FMIPA. Universitas Lambung Mangkurat. FMIPA Universitas Lampung.

- Najihudin, A., Chaerunnisaa, A., Subarnas, A. (2017). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (Cassia Fistula L) Dengan Metode Dpph*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat. Volume 4, Nomor 2.
- Nanden N. Isolasi senyawa antioksidan ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura* Linn). Skripsi: Universitas Jendral Achmad Yani. 2012. Cimahi
- Laswati, D. T., Sundari, N. R. I., dan Anggraini, O. 2017. Pemanfaatan kersen (*Muntingiacalabura*, L.) sebagai alternatif produk olahan pangan: sifat kimia dan sensoris. *JurnalJITIPARI*, Vol. 4: 127-134.
- Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeong HS, and Kim JH 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci*. 73: 167-179.
- Lim, T. K. 2012. *Edible medicinal and non-medicinal plants*. London New York. SpringerDordrecht Heidelberg. 489-91.
- Marjoni,Mhd, Riza, Afrinaldi, Ari Devi Novita., 2015. Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)*JURNAL KEDOKTERAN YARSI* 23 (3) : 187-196
- Mailandari, mely.(2012). Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garinia kydia* Roxb.Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Yang Aktif, 51.
- Martiningsih, N., Widaa, G., & Kristiyanti, P. (2016).Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode DPPH.*Prosiding Semunar Nasional MIPA*, ISSN: 978-602-6428-00-4: 332-337.
- Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused byMethanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*.2007.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.*Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal Songklanakarin J. Sci. Technol* 26 (2) : 211-219.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *Journal Kesehatan*. VII(2):361–367

- Notoatmodjo, S. (2010). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Nimse, S.B., & Pal, Dilipkumar. (2019). Free radicals, natural antioxidants and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 5 : 27986-28006.
- Onkar, Pradnya, Jitendra Bangar and Revan Karodi. 2012 Evaluation of Antioxidant activity of traditional formulation giloy satva and hydroalcoholic extract of the *Curculigo orchioides* Gaertn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02 (06); 2012: 209-213
- Phaniendra, A., D. B. Jestadi and L. Periyasamy. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30(1), pp. 11-26.
- Prakash A 2001. Antioxidant activity medallion laboratories: analytical progres 19(2): 1–4.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., Djunaedi, A. (2013). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (Telescopium telescopium) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH (Diphenyl Picril Hidrazil*. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang. *Journal Of Marine Research*. Volume 2, Nomor 4, Halaman 36-45.
- Race, Sharla. 2009. Antioxidant : The Truth About BHA, BHT, TBHQ and Other Antioxidants Used As Food Additives. Tigmor Book : London
- Rao, R. S. & Moller, I. M., 2011. Pattern of Occurrence and Occupancy of Carbonylation Sites in Proteins. *Proteomics*, Volume 11, pp. 4166-4173.
- Rohman, A.; Riyanto S.; Yuniarti N.; Saputra W.R.; Utami R.; Mulatsih W. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavaonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Padanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*. 2010. 17, 97-106.
- Rosandari, T., Thayib, M. H., Krisdiawati, N. 2011. Variasi penambahan gula dan lamainkubasi pada proses fermentasi Cider Kersen (*Muntingina calabura* L.). Program Studi Teknologi Industri Pertanian.
- Rosalina, K., Adang, B. (2018). *Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (Annona Muricata L) Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrylhidrazyl (Dpph)*. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tribuana Kalabahi. Partner, Tahun 23 Nomor 1, Halaman 567 – 574

- Sari, C. I. P. 2012. Kualitas minuman serbuk Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan variasi konsentrasi maltodekstrin dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Skripsi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
- Sentat, T., Susiyanto Pangestu. 2016. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Dengan Induksi Nyeri Asam Asetat. Jurnal Ilmiah Manuntung, 2(2), 147-153.
- Shirmila Jose g and Radhamany P M. 2013. In vitro Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoid of Wild Edible Mushroom *Macrolepiotamastoidea* (fr.) Singer. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5 (2) : 161-166
- Sindhe AM, Bodke YD, dan Candrashekar A. 2013. Antioxidant and in vivo anti-hyperglycemic activity of *Muntingia calabura* leaves extracts 5(3): 427-435
- Sunarni, T., Pramono, S., Asmah, R. 2007, Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), M.F.I., 18 (3) : 111-116.
- Sugiyono, 2005, Memahami Penelitian Kualitatif, Bandung: Alfabeta.
- Trevor R 1995. Kandungan organik tumbuhan, Diterjemahkan oleh Kosasih, Padmawinata. Edisi 6, Bandung.
- Utomo, A.R., Retnowati, R., Guswono, U.P. Pengaruh Konsentrasi Minyak Kenanga (*Cananga odorata*) Terhadap Aktivasinya Sebagai Anti Radikal Bebas. Kimia Student Journal. 2013.1(2). Hal. 265.
- Vembriarto, J. P., dan Rahmad, S. 2014. Pengaruh ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Ratus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin (STZ). Fakultas Kedokteran Hewan, UGM. Yogyakarta.
- Verdayanti, T. E. 2009. Uji efektifitas jus buah kersen terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih. UMM. Malang. Ujianto. 2011. Sirup buah kersen, penyembuh asam urat.
- Widyastuti, N. 2010. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP Serta Kolerasinya Dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman* [Skripsi]. FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarsi Herry. 2011. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.

- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Cetakan kelima. Yogyakarta: Penerbit Kanisius (Anggota IKAPI).
- Winarsi, H. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta. 2007.
- Werdhasari, Asri. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes, Kemenkes RI.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains* 15(1) : 48 – 52.
- Yuliarti N 2008. *Racun di sekitar kita*. Andi Offset. Yogyakarta: 25-28
- Zakaria, Z. A., Mohammed A. M., Jamil N. S. M. 2011. *In vitro antiproliferative and antioxidant activities of the Extracts of Muntingia calabura leaves*. *The American Journal of Chinese medicine*. 39 (1). P 183-200.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 08/PL17.8/SP/2021

Menindaklanjuti surat dari Ketua STIKES dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 3117/SDS/U/XII/2020 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Alghiffari
NIM : 17040048
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ STIKES dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Dilleniidae; Ordo: Malvales; Famili: Tiliaceae; Genus: Muntingia; Spesies: Muntingia calabura, L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 07 Januari 2021
Ka. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu



Dr. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001



(hasil determinasi tumbuhan)



(ekstrak di kalibrasi)

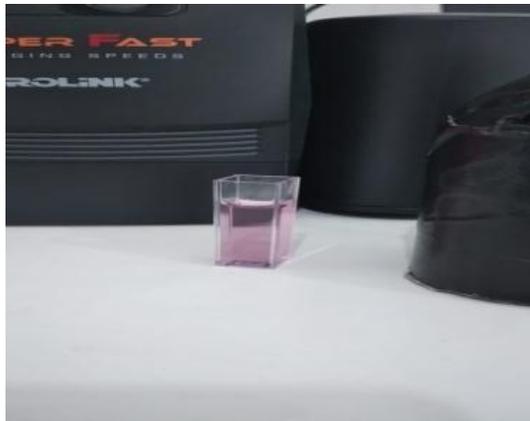


(ekstrak ditimbang)

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



(sampel ekstrak dengan dpph)



(sampel ekstrak dengan dpph)



(sampel ekstrak dengan quarcetin)

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Ekstrak

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

$$\text{Rendemen} = \frac{17,4}{39,4} \times 100\% = 44,1 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan DPPH

Penimbangan DPPH

$$\begin{aligned} 5 \text{ mg dilarutkan pada } 100 \text{ ml etanol pa} &= \frac{5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 50 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan Larutan Ekstrak dan Quarsetin

Perhitungan sampel ekstrak daun kersen

Larutan Induk = 10 mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol
pa 10 ml:

$$\begin{aligned} &= \frac{10 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

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

$$150 \text{ ppm} = \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

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

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

Perhitungan Quarsetin

Larutan Induk = 2 mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol pa 10 ml:

$$\begin{aligned} &= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 200 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

Lampiran 7. Perhitungan % Inhibisi

Perhitungan % Inhibisi untuk Ekstrak

Menit 10

$$50 = \frac{0,773 - 0,708}{0,773} \times 100\% = 8,4\%$$

$$100 = \frac{0,773 - 0,646}{0,773} \times 100\% = 16,4\%$$

$$150 = \frac{0,773 - 0,407}{0,773} \times 100\% = 47,3\%$$

$$200 = \frac{0,773 - 0,376}{0,773} \times 100\% = 51,3\%$$

$$250 = \frac{0,773 - 0,358}{0,773} \times 100\% = 53,6\%$$

Menit 20

$$50 = \frac{0,773-0,707}{0,773} \times 100\% = 8,5\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,646}{0,773} \times 100\% = 16,4\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,406}{0,773} \times 100\% = 47,4\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,375}{0,773} \times 100\% = 51,4\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,357}{0,773} \times 100\% = 53,8\%$$

Menit 30

$$50 = \frac{0,773-0,707}{0,773} \times 100\% = 8,5\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,621}{0,773} \times 100\% = 19,4\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,406}{0,773} \times 100\% = 47,4\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,373}{0,773} \times 100\% = 51,7\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,357}{0,773} \times 100\% = 51,4\%$$

Menit 40

$$50 = \frac{0,773-0,705}{0,773} \times 100\% = 2,9\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,620}{0,773} \times 100\% = 19,7\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,405}{0,773} \times 100\% = 47,6\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,372}{0,773} \times 100\% = 51,8\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,365}{0,773} \times 100\% = 53,9\%$$

Menit 50

$$50 = \frac{0,773-0,704}{0,773} \times 100\% = 8,9\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,619}{0,773} \times 100\% = 19,9\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,405}{0,773} \times 100\% = 47,6\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,372}{0,773} \times 100\% = 51,8\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,355}{0,773} \times 100\% = 54,0\%$$

Menit 60

$$50 = \frac{0,773-0,703}{0,773} \times 100\% = 9,05\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,618}{0,773} \times 100\% = 20,0\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,404}{0,773} \times 100\% = 47,7\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,371}{0,773} \times 100\% = 52,0\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,354}{0,773} \times 100\% = 54,0\%$$

Perhitungan % Inhibisi untuk Kuersetin

Menit 10

$$10 = \frac{1,132-0,578}{1,132} \times 100\% = 48,9\%$$

$$20 = \frac{1,132-0,394}{1,132} \times 100\% = 65,1\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,333}{1,132} \times 100\% = 70,5\%$$

$$40 = \frac{1,132-0,297}{1,132} \times 100\% = 73,7\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,256}{1,132} \times 100\% = 77,3\%$$

Menit 20

$$10 = \frac{1,132-0,576}{1,132} \times 100\% = 49,2\%$$

$$20 = \frac{1,132-0,393}{1,132} \times 100\% = 62,5\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,331}{1,132} \times 100\% = 70,7\%$$

$$40 = \frac{1,132-0,296}{1,132} \times 100\% = 73,8\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,253}{1,132} \times 100\% = 77,6\%$$

Menit 30

$$10 = \frac{1,132-0,575}{1,132} \times 100\% = 26,31\%$$

$$20 = \frac{1,132-0,392}{1,132} \times 100\% = 65,3\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,330}{1,132} \times 100\% = 70,8\%$$

$$40 = \frac{1,132-0,295}{1,132} \times 100\% = 73,9\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,252}{1,132} \times 100\% = 77,7\%$$

Menit 40

$$10 = \frac{1,132-0,547}{1,132} \times 100\% = 49,2\%$$

$$20 = \frac{1,132-0,392}{1,132} \times 100\% = 65,3\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,329}{1,132} \times 100\% = 70,9\%$$

$$40 = \frac{1,132-0,294}{1,132} \times 100\% = 74,0\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,250}{1,132} \times 100\% = 77,9\%$$

Menit 50

$$10 = \frac{1,132-0,572}{1,132} \times 100\% = 49,4\%$$

$$20 = \frac{1,132-0,391}{1,132} \times 100\% = 65,4\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,328}{1,132} \times 100\% = 71,0\%$$

$$40 = \frac{1,132-0,293}{1,132} \times 100\% = 74,1\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,249}{1,132} \times 100\% = 78 \%$$

Menit 60

$$10 = \frac{1,132-0}{1,132} \times 100\% = 49,5\%$$

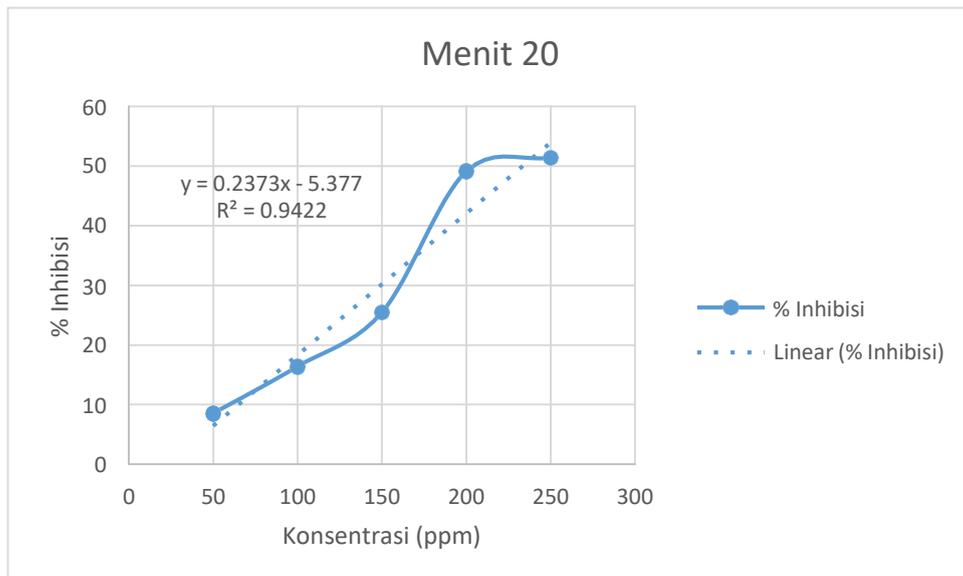
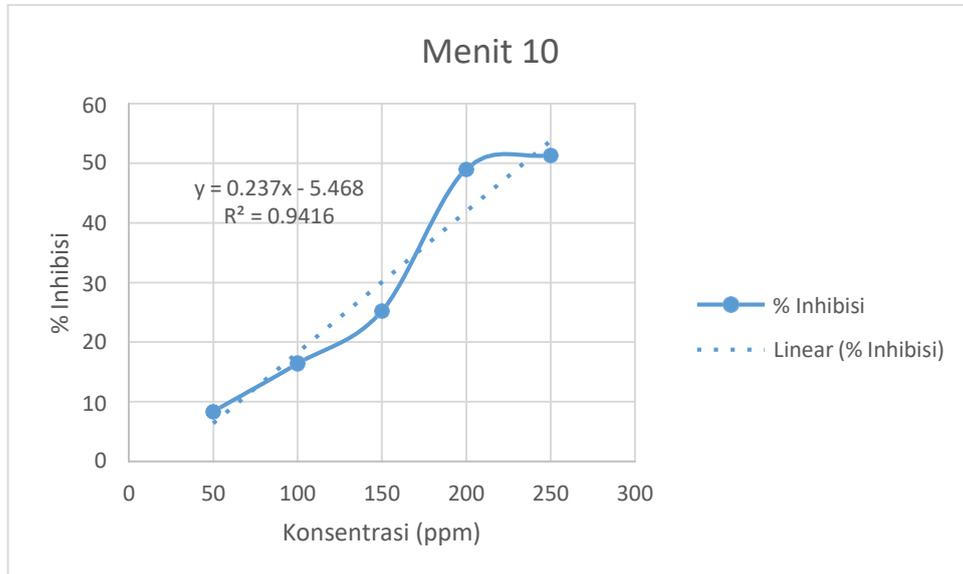
$$20 = \frac{1,132-0,391}{1,132} \times 100\% = 65,4\%$$

$$30 = \frac{1,132-0,327}{1,132} \times 100\% = 71,1\%$$

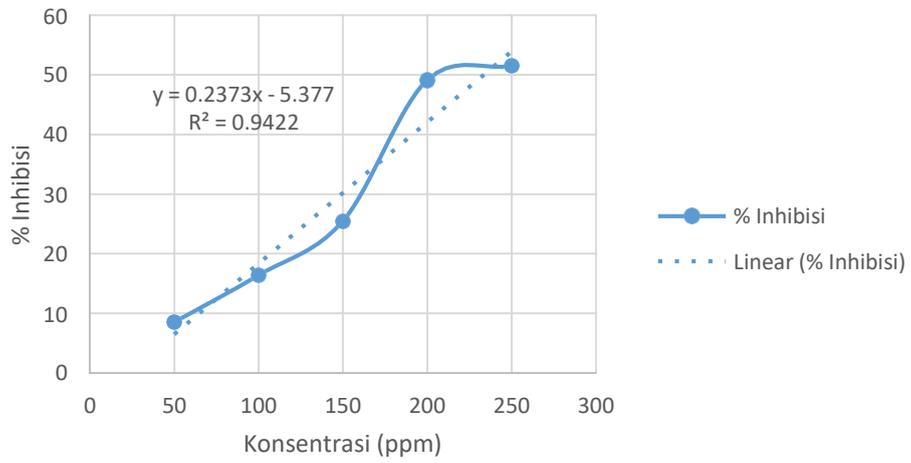
$$40 = \frac{1,132-0,292}{1,132} \times 100\% = 74,2\%$$

$$50 = \frac{1,132-0,248}{1,132} \times 100\% = 78 \%$$

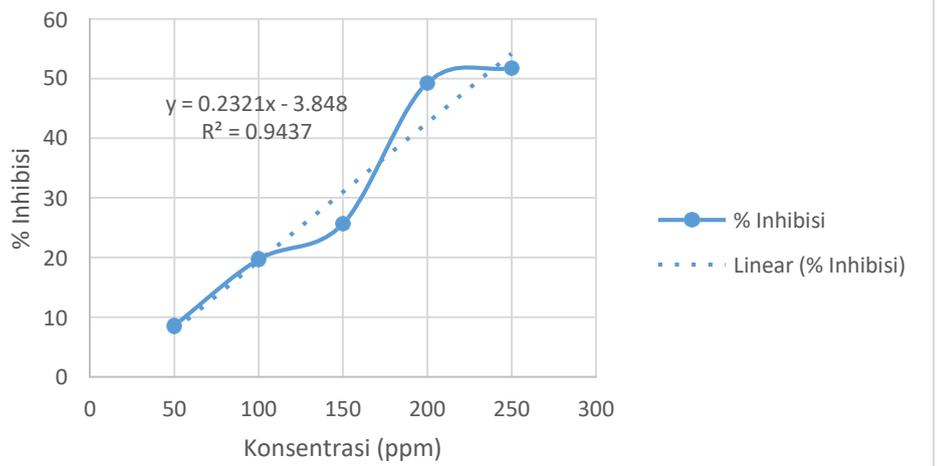
**Lampiran 8. Grafik IC 50
(IC50 Ekstrak Daun Kersen)**



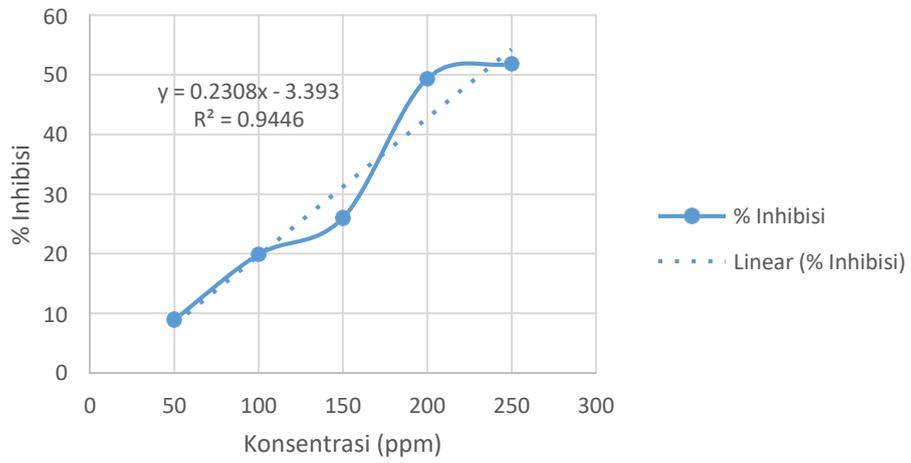
Menit 30



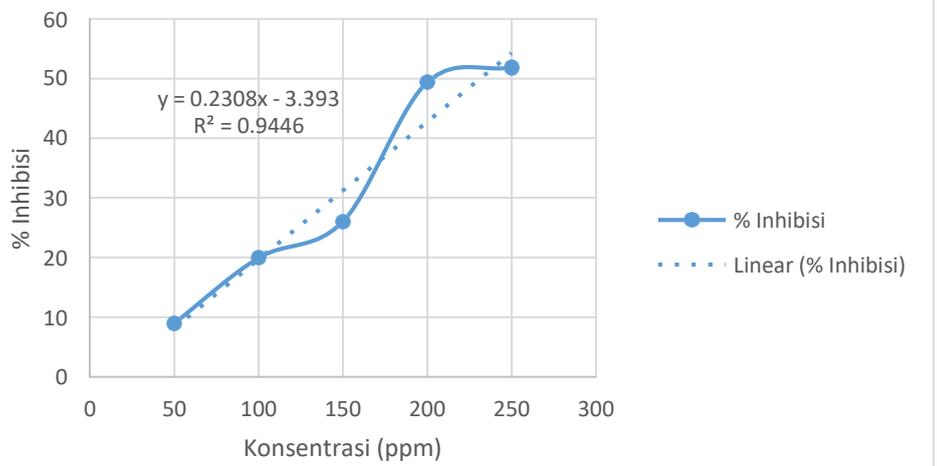
Menit 40



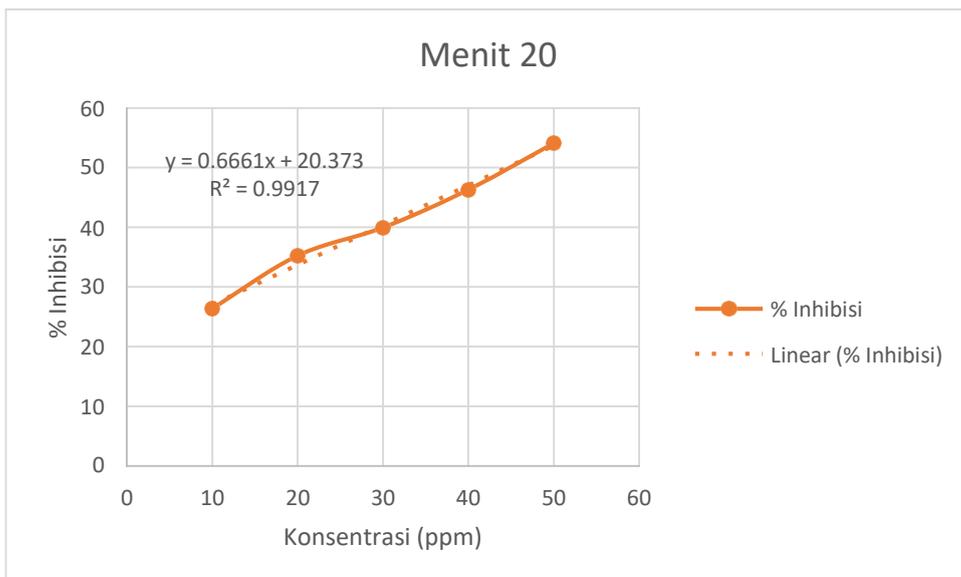
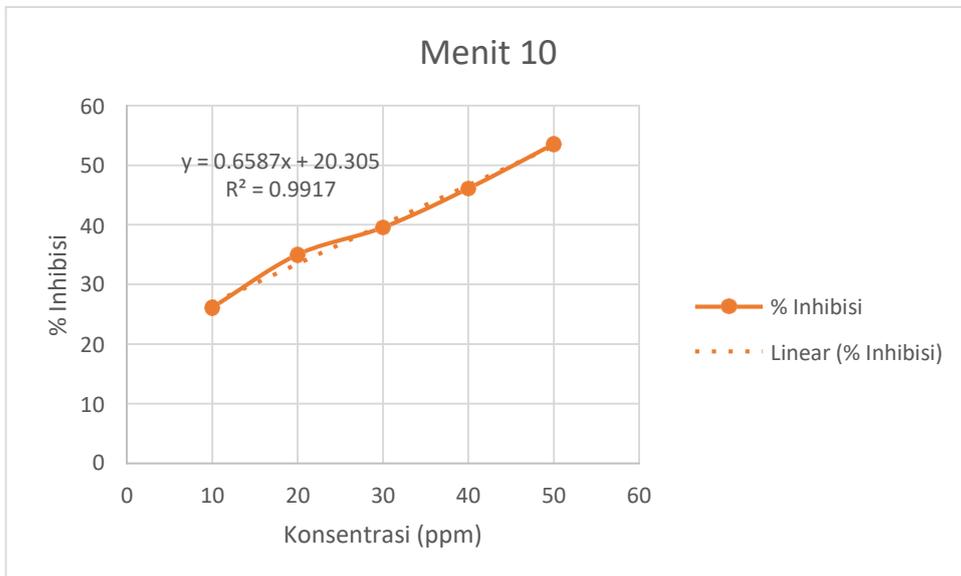
Menit 50



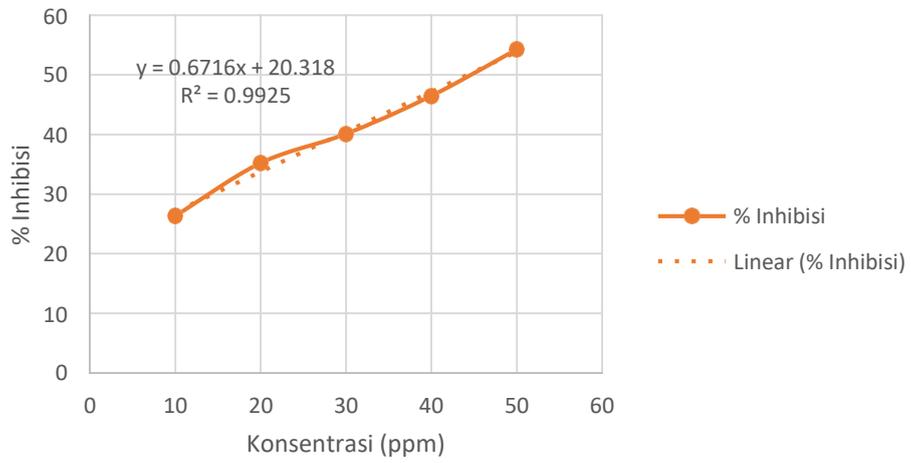
Menit 60



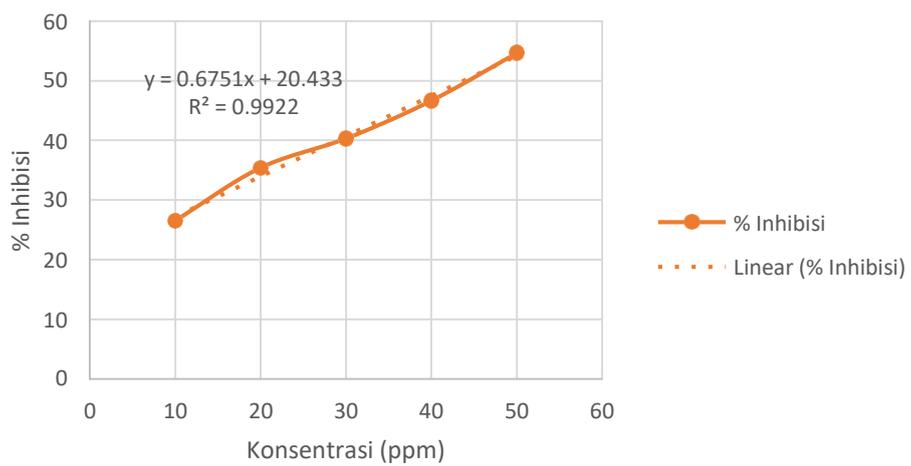
(IC50 Kuersetin)



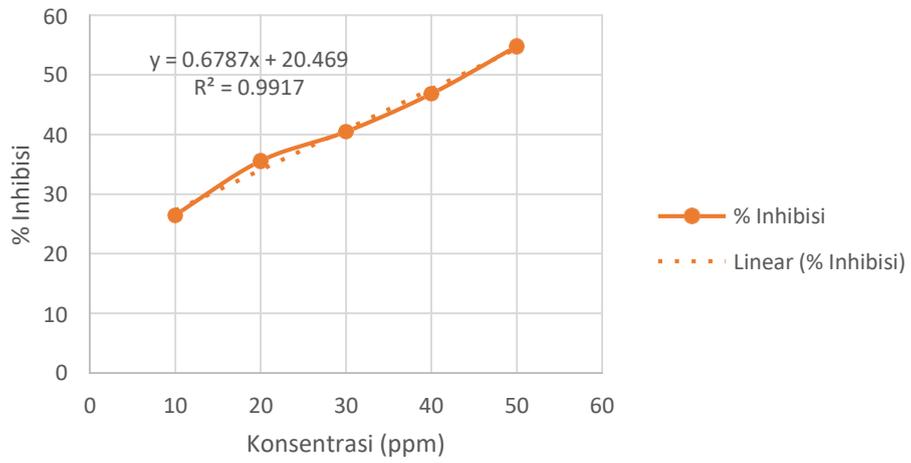
Menit 30



Menit 40



Menit 50



Menit 60

