

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN  
MENGKUDU (*Morinda citrifolia L.*) DENGAN METODE DPPH  
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

**SKRIPSI**



**Oleh:  
Qurrotul Aini  
NIM 18040084**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN  
MENGKUDU (*Morinda citrifolia L*) DENGAN METODE DPPH  
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:  
**Qurrotul Aini**  
**NIM 18040084**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

## **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, 07 Juli 2022

Pembimbing Utama,

apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm  
NIK. 19860809 201901 2 151

Pembimbing Anggota,

Arief Judi Susilo, S. Kp  
NIK. 19651217 989003 1 001

## HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir yang berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari

: Rabu

Tanggal

: 10 Agustus 2022

Tempat

: Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji  
Ketua Penguji,

apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm  
NIK. 19890603 201805 2 148

Penguji II,

apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm  
NIK. 19860809 201901 2 151

Penguji III,

Arief Judi Susilo, S. Kp  
NIK. 19651217 989003 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas dr. Soebandi



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

## **PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI**

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Qurrotul Aini  
NIM : 18040084  
Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi/laporan tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 10 Agustus 2022

Yang menyatakan,



(Qurrotul Aini)

## **SKRIPSI**

# **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN MENGKUDU (*Morinda citrifolia L*) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

Oleh:

Qurrotul Aini  
NIM. 18040084

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Arief Judi Susilo, S. Kp

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang.
3. Bapak, ibu dan seluruh keluarga Mujiono yang telah memberikan doa, dukungan dan semangat demi kelancaran dan kesuksesan saya.
4. Bapak ibu dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember, Bapak dan Ibu guru SMK Yannas Husada Bangkalan, Bapak dan Ibu guru SMP 1 Arosbaya, Bapak dan Ibu guru SDN 02 Arosbaya dan TK Muslimat yang telah memberikan bimbingan, ilmu pengetahuan, dan pelajaran hidup yang sangat berharga dan bermanfaat bagi saya.
5. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.
6. Almamater Universitas dr. Soebandi Jember.

## **MOTTO**

“Jagalah Sholatmu, karena ketika kamu kehilangannya, maka kamu akan kehilangan yang lainnya”

**Umar Bin Khattab**

“Belajar jadi pemaaf, berhenti menjadi pembenci, berhenti salahkan orang, belajar memperbaiki diri”

**Anonim**

“Work hard in silence, let your success be your noise”

**Frank Ocean**

“A miracle is another name of an effort”

**Kang Tae Joon**

“Skripsi yang baik adalah skripsi yang selesai”

**Anies Baswedan**

## ABSTRAK

Aini, Qurrotul\* Hidayati, Sholihatil\*\* Susilo, Arief Judi\*\*\*. 2022. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)*. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

**Latar Belakang:** Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas di dalam tubuh dengan metabolisme secara alami. Daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu.

**Metode:** *Experimental laboratories*, sampel yang digunakan daun mengkudu. Metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan uji penangkapan radikal DPPH (2,2-difenill-1-pikrilhidrazil) menggunakan senyawa pembanding kuersetin dengan alat ukur spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm pada menit ke-50 dan dianalisis hasil pengujian hingga diperoleh nilai IC<sub>50</sub>.

**Hasil Penelitian:** Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> 83,7 µg/mL dan aktivitas antioksidan senyawa pembanding kuersetin menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> 39,6 µg/mL.

**Kesimpulan:** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu termasuk ke dalam kategori kuat dan untuk senyawa pembanding termasuk ke dalam kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Antioksidan, Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*), DPPH, IC<sub>50</sub>

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## **ABSTRACT**

Aini, Qurrotul\* Hidayati, Sholihatil\*\* Susilo, Arief Judi\*\*\*. 2022. **Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Noni Leaves by DPPH Methode (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).** *Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi Jember.*

**Background:** Antioxidants are compounds that are able to inhibit the reaction of free radicals in the body. Antioxidants serve to neutralize free radicals in the body by metabolism naturally. The leaves of noni (*Morinda citrifolia L*) are one of the plants that contain secondary metabolite compounds that have the potential to be antioxidants. This study aims to identify the antioxidant activity of ethanol extract of the leaves of noni.

**Method:** Experimental laboratories, noni leaf samples were used. Method of maceration extraction using 70% ethanol as a solvent. Antioxidant activity was determined by DPPH radical capture test (2,2-difenill-1-picrilhydrazyl) using quercetin comparison compound with UV-Vis spectrophotometer measuring instrument at a wavelength of 515 nm at the 50 minute and analyzed the test results until  $IC_{50}$  values were obtained.

**Results:** The results of the antioxidant activity of the ethanol extract of noni leaves obtained an  $IC_{50}$  value of 83.7  $\mu\text{g/mL}$  and the antioxidant activity of the quercetin comparison compound obtained an  $IC_{50}$  value of 39.6  $\mu\text{g/mL}$ .

**Conclusion:** The results of the antioxidant activity test of ethanol extract of the leaves of noni are included in the strong category and for comparison compounds are included in the very strong category.

**Keywords:** Antioxidant, Noni Leaves (*Morinda citrifolia L*), DPPH,  $IC_{50}$

\*Author

\*\*Advisor 1

\*\*\*Advisor 2

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga Skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)”** dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi.

Penulis sangat berharap semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan dan pengalaman bagi pembaca. Serta penulis juga berharap lebih jauh lagi agar skripsi ini bisa digunakan sebagaimana mestinya. Saya sebagai penulis merasa bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman. Untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan skripsi ini. Tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih terhadap bantuan dari pihak-pihak yang telah berkontribusi dengan memberikan sumbangan baik pikira nmaupun materinya. Untuk itu terimakasih peneliti tujuhan:

1. Allah SWT dan Rasullallah shallallahu’ alaihi wassalam. Segala kemudahan dalam penyusunan skripsi ini adalah karena kemurahan-Mu dan tanpa adanya rasa cinta kepada Rasul-Mu tentu diri ini akan mudah putus asa dan patah semangat.

2. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku rektor Universitas dr. Soebandi Jember.
3. Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember; xii
4. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.
5. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm dan Arief Judi Susilo S. Kp selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, masukan, serta bimbinganya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku dosen ketua penguji tugas akhir yang telah memberikan arahan dan masukan.
7. apt. Shinta Mayasari, M.Farm.,Klin selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa
8. Dosen, staff TU, dan karyawan program studi farmasi fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember
9. Kepala laboratorium Universitas dr. Sobeandi Jember dan staff yang telah memberi ijin kepada peneliti untuk melakukan penelitian
10. Kepada kedua orang tua dan keluarga yang selalu berusaha memberikan semangat dan dukungan selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi.
11. Kepada Naila, Rahma, Wawa dan mbak Lely yang selalu menjadi teman dalam suka dan duka semasa perkuliahan.
12. Kepada Ulfa dan Dwi team seperjuangan antioksidan.

13. Kepada Heris Hendrayana Pratama yang telah manjadi support system disetiap suka maupun duka.

14. Serta semua pihak yang telah memberikan dukungan yang tidak dapat peneliti sebutkan hingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

*15. Last but not least. I wanna thanks me. I wanna thanks me for believing in me. I wanna thanks me for doing all this hard work. I wanna thanks me for having no days off. I wanna thanks me for never quitting.*

Semoga Allah membalas segala kebaikan dari semua pihak yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan skripsi dengan baik. Aamiin. Semoga Allah SWT membalas kebaikan dari semua pihak yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga penelitian ini dapat menjadi bahan evaluasi bagi tempat penelitian dan memberikan manfaat bagi pembaca khususnya peneliti, Aamiin. Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Jember, 07 Juli 2022

Penulis,

Qurrotul Aini  
NIM. 18040084

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBERAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>x</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xix</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xx</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti.....	5
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain .....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat .....	5
1.4.4 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan .....	5
1.5 Keaslian Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Tanaman Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> ).....	7
2.1.1 Morfologi Tanaman Mengkudu .....	7
2.2 Klasifikasi Tanaman Mengkudu.....	7
2.2.1 Kandungan Kimia Daun Mengkudu .....	9
2.2.2 Manfaat Daun Mengkudu .....	12
2.2.3 Penelitian Daun Mengkudu.....	12
2.3 Simplicia .....	13
2.4 Ekstrak .....	14
2.5 Radikal Bebas .....	14
2.5.1 Definisi Radikal Bebas.....	14
2.5.2 Sumber Radikal Bebas .....	15
2.5.3 Mekanisme Radikal Bebas .....	16
2.5.4 Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas.....	17

2.6 Antioksidan.....	18
2.6.1 Definisi Antioksidan .....	18
2.7 Mekanisme Antioksidan.....	18
2.7.1 Sumber Antioksidan.....	19
2.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	20
2.8.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).....	20
2.8.2 FRAP ( <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ).....	22
2.8.3 CUPRAC ( <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i> ) .....	22
2.9 Kuersetin.....	23
2.10 Tinjauan Metode Ekstraksi .....	23
2.10.1 Definisi Ekstraksi .....	23
2.10.2 Macam-macam Ekstraksi .....	23
2.10.3 Pelarut .....	26
2.11 Spektrofotometer UV-Vis ( <i>Ultraviolet Visible</i> ) .....	26
2.11.1 Definisi Spektrofotometer UV-Vis .....	26
2.11.2 Jenis Spektrofotometer.....	27
2.11.3 Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Vis .....	27
2.11.4 Sumber Radiasi Spektrofotometer UV-Vis.....	29
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>30</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	30
3.2 Hipotesis .....	31
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>32</b>
4.1 Desain Penelitian .....	32
4.2 Populasi .....	32
4.3 Sampel Penelitian .....	32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	32
4.5 Variabel Penelitian .....	33
4.5.1 Variabel Bebas .....	33
4.5.2 Variabel Terikat .....	33
4.5.3 Variabel Terkendali.....	33
4.6 Definisi Operasional .....	34
4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data .....	35
4.7.1 Alat dan Bahan.....	35
4.7.2 Teknik Pengolahan Data .....	35
4.8 Analisis Data.....	40
4.9 Standar Operasional Prosedur (SOP) .....	41
4.10 Kerangka Operasional .....	43
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>44</b>
5.1 Hasil Determinasi Tanaman .....	44
5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	44
5.3 Hasil Ekstraksi Daun Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> ).....	44
5.4 Hasil Skrining Fitokimia .....	45
5.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	45
5.5.1 Pengukuran Absorbansi DPPH.....	45
5.5.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	46

5.5.3 Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin.....	46
5.5.4 Hasil Analisis Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin.....	47
<b>BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN .....</b>	<b>49</b>
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>60</b>
7.1 Kesimpulan.....	60
7.2 Saran .....	60
7.2.1 Saran untuk peneliti .....	60
7.2.2 Saran untuk peneliti lain .....	60
7.2.3 Saran untuk masyarakat .....	60
7.2.4 Saran untuk ilmu pengetahuan.....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>61</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>67</b>

## **DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2. 1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH .....	21
Tabel 2. 2 Spektrum sinar tampak.....	29
Tabel 4. 1 Definisi operasional .....	34
Tabel 4. 2 Standar operasional prosedur .....	41
Tabel 5. 1 Hasil ekstrak etanol daun mengkudu .....	45
Tabel 5. 2 Hasil skrining fitokimia .....	45
Tabel 5. 3 Hasil analisis persen inhibisi.....	47
Tabel 5. 4 Hasil analisis nilai IC <sub>50</sub> .....	47

## **DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
Gambar 2. 1 Tanaman mengkudu .....	8
Gambar 2. 2 Mekanisme DPPH terhadap aktivitas antioksidan .....	21
Gambar 3. 1 Kerangka konseptual .....	30
Gambar 5. 1 Kurva panjang gelombang DPPH .....	46
Gambar 6. 1 Reaksi flavonoid dengan reagen Mg dan HCl .....	52
Gambar 6. 2 Reaksi fenol dengan reagen FeCl <sub>3</sub> .....	52
Gambar 6. 3 Reaksi alkaloid dengan reagen HCl dan mayer .....	53
Gambar 6. 4 Reaksi hidrolisis saponin dalam air.....	54
Gambar 6. 5 Reaksi tanin dengan reagen FeCl <sub>3</sub> .....	54
Gambar 6. 6 Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan .....	56

## **DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Surat Persetujuan Judul .....	68
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman .....	69
Lampiran 3. Proses Pembuatan Simplisia .....	70
Lampiran 4. Proses Pembuatan Ekstrak.....	72
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	73
Lampiran 6. Skrining Fitokimia.....	74
Lampiran 7. Optimasi Panjang Gelombang .....	75
Lampiran 8. Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	76
Lampiran 9. Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	78
Lampiran 10. Photometry Test Report Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin .....	89
Lampiran 11. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	92

## DAFTAR SINGKATAN

DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
UV	: <i>Ultaviolet</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNS	: <i>Reaktif Nitrogen Spesies</i>
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
IC <sub>50</sub>	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet Visible</i>
HCL	: <i>Hydrogen Chloride</i>
TBC	: Tuberkulosis
MAE	: <i>Microwave Extraction</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
BHA	: <i>Butylated Hydroxy Anisole</i>
BHT	: <i>Butylated Hydroxy Toluene</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
CUPRAC	: <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
P.A	: <i>Pro Analysis</i>

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perubahan pola hidup saat ini memiliki dampak buruk bagi kesehatan. Kurangnya kesadaran masyarakat dalam penerapan hidup sehat seperti pola makan yang tidak sehat, kurangnya aktifitas fisik, keadaan stress yang berlebih dan sering terpaparnya tubuh oleh zat berbahaya dapat mengakibatkan timbulnya penyakit degeneratif (Anisa *et al.*, 2021). Faktor lain yang dapat memicu terjadinya peningkatan kejadian penyakit degeneratif yaitu adanya senyawa radikal bebas yang berlebih didalam tubuh. Senyawa radikal bebas dihasilkan dari reaksi oksidasi intraseluler. Reaksi oksidasi terjadi ketika bernafas dan proses metabolisme dalam tubuh (Yuslanti, 2018).

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas, hal ini dapat menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Phaniendra *et al.*, 2015).

Senyawa radikal bebas dalam tubuh berasal dari 2 sumber yaitu endogenus dan eksogenus. Sumber radikal bebas endogenus sangat bervariasi seperti terjadinya autoksidasi, oksidasi enzimatik, *respiratory burst* didalam tubuh. Sumber radikal bebas eksogenus berasal dari luar sistem tubuh seperti sinar *ultraviolet* (UV), radiasi, dan asap rokok. Radikal bebas dibagi menjadi 2

golongan yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reaktif Nitrogen Spesies* (RNS) (Sinaga, 2016).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan suatu mediator penyebab terjadinya penyakit intraseluler lipid, karbohidrat, protein, dan asam nukleat (Ikrima *et al.*, 2020). ROS memiliki sifat yang sangat reaktif sehingga dapat memicu terjadinya ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan (Gupta *et al.*, 2017). Sel dalam tubuh secara rutin menghasilkan senyawa radikal bebas dan reactive oxygen spesies yang merupakan bagian dari proses metabolisme. Apabila terjadi peningkatan produksi ROS melebihi sistem pertahanan antioksidan akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif (Yuslianti, 2018) .

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh dengan mekanisme kerja mendonorkan elektronnya terhadap senyawa oksidan (Wiendarlina & Sukaesih, 2019). Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas didalam tubuh dengan metabolisme secara alami. Produksi antioksidan didalam tubuh tidak efektif dengan seiringnya waktu. Tubuh manusia tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang berlebih, sehingga jika terpapar radikal bebas secara berlebihan tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Terdapat 2 jenis golongan antioksidan eksogen yang dapat digunakan yaitu sintetik dan alami. Penggunaan antioksidan sintetik kemungkinan terdapat efek samping yang akan terjadi sehingga sebagai alternatif dapat digunakan antioksidan alami dengan pemanfaatan tanaman herbal. Penggunaan tanaman

herbal sebagai pengobatan telah dilakukan secara turun temurun di Indonesia (Sayuti & Yenrina, 2015).

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati. Terdapat 30.000 spesies tanaman ada di Indonesia, sekitar 9.600 spesies memiliki khasiat untuk pengobatan. Pemanfaatan tanaman sebagai terapi pengobatan telah dilaksanakan secara turun-temurun sebagai ramuan obat tradisional (Harefa, 2020). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan untuk pengobatan adalah tanaman mengkudu. Semua bagian dari tanaman mengkudu dapat digunakan untuk terapi pengobatan. Adanya senyawa flavonoid, fenol ataupun polifenol dalam tanaman mengkudu, menjadikan tanaman mengkudu sebagai salah satu sumber antioksidan. Salah satu bagian tanaman mengkudu yang memiliki banyak kandungan metabolit sekunder adalah bagian daun yang memiliki kandungan meliputi fenol, tanin, flavonoid, alkaloid dan saponin (Qulub *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian diatas bahwa daun mengkudu memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk terapi pengobatan, maka hal ini yang mendasari untuk dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) sebagai alternatif pengobatan penyakit yang diakibatkan radikal bebas. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% sebagai pembeda dari penelitian terdahulu. Penggunaan etanol 70% pada penelitian ini bertujuan untuk menarik lebih banyak senyawa metabolit yang terkandung dalam daun mengkudu. Dari hasil penelitian (Riwanti *et al.*, 2020) yang telah melakukan penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi etanol 50, 70 dan 96% terhadap kadar metabolit sekunder yang diperoleh, didapatkan hasil

yaitu kadar flavonoid tertinggi terdapat dalam ekstrak etanol 70%. Hal ini dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50% sehingga senyawa flavonoid yang sifatnya polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 70%.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu, bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) menggunakan metode DPPH.
2. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis nilai aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) pada ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan metode DPPH.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti**

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) menggunakan metode DPPH.

### **1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antioksidan baru dari bahan alam dan sebagai sumber informasi dan refrensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya.

### **1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan memberi informasi serta pengetahuan untuk kemajuan dibidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L)

### **1.4.4 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan**

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi penambahan ilmu pengetahuan khususnya bagi ilmu kefarmasian mengenai aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) sebagai alternatif pengembangan obat baru untuk penyembuhan penyakit degeneratif.

## 1.5 Keaslian Penelitian

**Tabel 1.1** Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
(Ramayani <i>et al.</i> , 2021).	1. Menggunakan sampel daun mengkudu 2. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan pelarut metanol. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%.
(Qulub <i>et al.</i> , 2018).	1. Menggunakan sampel daun mengkudu 2. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan pelarut etanol 96%. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%.
(E. K. Sari & Hidayati, 2021)	1. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan sampel ekstrak etanol daun mangkokan. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L</i> )

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)**

#### **2.1.1 Morfologi Tanaman Mengkudu**

Tanaman mengkudu merupakan tanaman yang berbuah sepanjang tahun. Mengkudu dapat tumbuh di dataran rendah sampai pada ketinggian 1500 meter di atas permukaan laut (Ramayani *et al.*, 2021). Tanaman mengkudu merupakan tanaman tahunan (perennial) yang berbentuk perdu, dengan tinggi antara 3-8 m, batang tanaman keras dan berkayu yang tumbuh ke atas serta mempunyai banyak percabangan. Cabang-cabang tumbuh mendatar dengan arah keluar kanopi tanaman. Daun termasuk daun tunggal, terdiri atas satu helai daun setiap satu tangkai daun (petiolus). Berbentuk lonjong, dengan ukuran panjang antara 10-40 cm dan lebar antara 15-17 cm, tergantung tingkat kesuburan tanaman. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau mengkilap, sedangkan permukaan bagian bawah berwarna hijau agak pucat. Tangkai daun pendek dan melekat pada batang atau cabang secara berselang-seling atau berpasangan (Zahrina *et al.*, 2017).

#### **2.2 Klasifikasi Tanaman Mengkudu**

Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) merupakan tumbuhan asli Indonesia. Tumbuhan ini termasuk keluarga kopi-kopian (Rubiaceae). Mengkudu banyak dikenal dengan berbagai nama yaitu noni, pace, kemudu, kudu (Jawa), cangkudu (Sunda), kodhuk (Madura) (Tarfiani, 2018).

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Viridiplantae  
Infrakingdom : Streptophyta  
Superdivision : Embryophyta  
Division : Tracheophyta  
Subdivision : Spermatophytina  
Class : Magnoliopsida  
Superorder : Asteranae  
Order : Gentianales  
Family : Rubiaceae  
Genus : Morinda L.  
Species : *Morinda citrifolia* L.

(*Integrated Taxonomic Information System*)



**Gambar 2. 1** Tanaman mengkudu

(Sumber: dokumen pribadi)

### **2.2.1 Kandungan Kimia Daun Mengkudu**

Zat utama yang terkandung dalam daun mengkudu meliputi senyawa kimia golongan triterpenoida/steroida, alkaloida, tanin, saponin, flavonoida, glikosida, fenol (Rambe *et al.*, 2021).

Menurut penelitian (Halimah *et al.*, 2019) menyatakan bahwa kandungan kimia dalam daun mengkudu dengan menggunakan beberapa metode pengolahan menghasilkan senyawa kimia yang berbeda. Pada metode penepungan daun mengkudu memiliki kandungan fenol, tanin, saponin, flavonoid, steroid, triterpenoid. Pada metode *bleeding* daun mengkudu memiliki kandungan alkaloid, fenol, saponin, flavonoid. Pada metode *juicing* daun mengkudu mengandung tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid. Dan mengandung senyawa tanin, flavonoid, steroid dengan metode dekokta.

#### **a. Triterpenoid**

Triterpenoid (C<sub>30</sub>) merupakan senyawa golongan terpenoid yang banyak terkandung dalam bahan alam. Triterpenoid adalah senyawa terpen yang memiliki unit isopren sebanyak enam dan memberikan aktivitas biologis yang penting bagi tubuh. Senyawa ini memiliki bentuk seperti kristal dengan titik leleh yang tinggi dan bersifat optis aktif (Ilyas, 2013).

#### **b. Alkaloid**

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang dihasilkan dari sintesis organisme hidup dengan mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Julianto, 2019). Alkaloid secara umum memiliki bentuk kristal dengan titik lebur tertentu

(Ilyas, 2013). Alkaloid mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air, kecuali alkaloid garam HCL atau H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dapat larut air (Mahmudah, 2011).

**c. Tanin**

Tanin merupakan senyawa yang mempunyai rasa pahit dan kelat (Julianto, 2019). Tanin mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung gugus hidroksil fenolik dengan membentuk ikatan silang efektif dengan protein dan molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat. Tanin terdiri dari 2 golongan yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* dan *ellagic acid* berikatan ester dengan molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon berupa *cathecin* dan *gallocathecin* (Hidayah, 2016).

**d. Saponin**

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada bagian tanaman akar, kulit, daun, biji, dan buah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan. Saponin memiliki rasa pahit, pembentukan busa stabil pada larutan cair dan dapat membentuk molekul dengan kolesterol. Saponin terdiri dari gula yang biasanya mengandung glukosa, galaktosa, asam glukoronat, xylosa, rhamnosa, yang berikatan dengan triterpenoid sehingga membentuk glikosida (Hidayah, 2016).

**e. Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan dialam. Senyawa ini merupakan zat merah, ungu, biru dan kuning yang ditemukan

dalam tumbuhan (Sayuti & Yenrina, 2015). Flavonoid memiliki gugus hidroksil dengan golongan senyawa polar, mempunyai struktur C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, setiap bagian C<sub>6</sub> memiliki cincin benzena yang dihubungkan dengan C<sub>3</sub> yang merupakan rantai alifatik. Flavonoid memiliki sifat pereduksi yang baik dengan menghambat reaksi oksidasi secara enzimatik atau non-enzimatik. Flavonoid dapat meredam terjadinya radikal hidroksi dan superoksi sehingga dapat melindungi membran lipid terhadap reaksi-reaksi yang memberikan dampak buruk. Aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid mempunyai peran sebagai komponen aktif tumbuhan yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit (Ilyas, 2013).

#### **f. Glikosida**

Glikosida adalah senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa ini akan kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan dapat digunakan untuk pengobatan. Bagian gula glikosida terikat pada atom C anomerik membentuk ikatan glikosida. Bagian gula glikosida disebut glikon dan bagian yang bukan gula disebut aglikon atau genin. Glikon dapat terdiri dari gula tunggal (monosakarida) atau beberapa unit gula (oligosakarida) (Julianto, 2019).

### **2.2.2 Manfaat Daun Mengkudu**

Pemanfaatan daun mengkudu sebagai bahan obat tradisional telah dilakukan secara turun temurun dapat digunakan untuk batuk, pilek, nyeri, penyakit hati, hipertensi, *tuberculosis* (TBC), malaria, cacingan, diabetes, kehilangan nafsu makan, hernia, infeksi saluran kemih, gangguan menstruasi, kanker, penyakit kardiovaskular, dan radang sendi. Ekstrak daun mengkudu dapat melindungi kulit dari kemerahan akibat sinar UV dan bengkak (eritema). Studi menunjukkan bahwa daun aman untuk penggunaan topikal dan mungkin berguna dalam mengurangi cedera akibat sinar *ultraviolet B* (UVB) (Ali *et al.*, 2016).

### **2.2.3 Penelitian Daun Mengkudu**

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai ekstrak daun mengkudu baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Menurut (Thahir & Azizah, 2019) pemberian ekstrak etanol daun mengkudu terhadap mencit yang terpapar diare. Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak 5% dan 10%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol duan mengkudu memiliki aktivitas antidiare. Konsentrasi 5% memiliki efek yang paling efektif untuk pengobatan diare dengan mengubah feses yang encer menjadi lunak. Kandungan tanin yang terdapat dalam daun mengkudu memiliki sifat adstringen yang mengakibatkan daun mengkudu dapat digunakan untuk antidiare. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun mengkudu dapat menghambat motilitas usus sehingga mengurangi sekresi cairan dan elektrolit.

Menurut (Kurniawan, 2018) pemberian ekstrak tepung buah mengkudu, ekstrak tepung daun mengkudu dan kombinasi keduanya terhadap pertumbuhan

bakteri asam laktat (BAL) dan *Escherichia coli*. Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak tepung 50%, 37,5%, 25%, dan 12,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung buah mengkudu, daun mengkudu dan kombinasi menunjukkan adanya hambatan terhadap bakteri asam laktat dan *Escherichia coli*. Kombinasi tepung buah dan daun memiliki zona hambat yang paling sebesar  $8,47 \pm 1,97^b$  terhadap bakteri *Escherichia coli* dan  $8,0 \pm 2,26^b$  terhadap bakteri asam laktat, tepung buah mengkudu memiliki zona hambat sebesar  $7,29 \pm 1,44^b$  terhadap bakteri *Escherichia coli* dan  $5,6 \pm 0,81^b$  terhadap bakteri asam laktat, tepung daun mengkudu memiliki zona hambat sebesar  $7,27 \pm 2,03^b$  terhadap bakteri *Escherichia coli* dan  $4,5 \pm 2,91^b$  terhadap bakteri asam laktat.

Menurut (Ramayani *et al.*, 2021) menyatakan bahwa ekstrak daun mengkudu dengan berbagai metode ekstraksi seperti maserasi, *microwave extraction* (MAE), dan sokletasi memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan dan aktivitas antioksidan. Kadar total fenolik, kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tinggi ditunjukkan pada metode ekstraksi sokletasi. Persentase aktivitas antioksidan menunjukkan adanya aktivitas redaman radikal bebas yang dihasilkan senyawa dalam ekstrak. Semakin banyak peredaman senyawa radikal bebas maka semakin besar persentase aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

### 2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alami sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain seperti simplisia yang dikeringkan. Simplisia

terbagi dalam beberapa kelompok yaitu simplisia hewani, nabati, dan mineral. Simplisia hewani merupakan simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tumbuhan utuh, bagian atau eksudat tanaman. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berupa mineral belum diolah dan telah diolah secara sederhana, belum berupa zat kimia murni (Pambudi *et al.*, 2017).

#### **2.4 Ekstrak**

Ekstrak merupakan sediaan cair, kental atau kering yang dipeoleh dari proses ekstraksi senyawa aktif simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, semua atau hampir semua pelarut di uapkan sehingga dihasilkan ekstrak yang diinginkan. ekstrak terdiri dari berbagai macam yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, ekstrak kering. Ciri-ciri ekstrak dilihat dari kadar air yang terkandung dalam ekstrak. Ekstrak cair memiliki kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering mengandung kadar air kurang dari 5% (Pambudi *et al.*, 2017).

#### **2.5 Radikal Bebas**

##### **2.5.1 Definisi Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbital luarnya. Elektron yang tidak memiliki pasangan akan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk senyawa radikal bebas baru yang lebih reaktif. Radikal bebas terdiri dari 2 golongan yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). ROS

merupakan mediator yang berperan pada kerusakan intraseluler lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. ROS bersifat sangat reaktif karena tidak stabil (memiliki elektron yang tidak berpasangan). Stres oksidatif terjadi ketika ada ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan sehingga meningkatkan kelebihan produksi ROS, akibatnya terjadi kerusakan jaringan. Produksi stress oksidatif terjadi pada proses metabolisme enzimatik dan reaksi nanoenzim. Reaksi enzimatik menghasilkan ROS pada proses pernafasan, sintesis prostaglandin, fagositosis dan sistem sitokrom 450 (Pizzino *et al.*, 2017). Stress oksidatif dapat memicu terjadinya penyakit fisiologis seperti penuaan, inflamasi, asma, diabetes, kanker dan aterosklerosis. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap kerusakan yang disebabkan radikal bebas dan stress oksidatif yang disebut antioksidan (Yuslanti, 2018). Senyawa antioksidan mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi yang menghasilkan radikal bebas, memecah rantai yang dapat merusak jaringan sel (Ikrima *et al.*, 2020).

### **2.5.2 Sumber Radikal Bebas**

Sumber radikal bebas terdiri dari 2 golongan yaitu sumber radikal bebas dari dalam tubuh (endogenus) dan sumber radikal bebas dari luar tubuh (eksogenus). Radikal bebas endogenus terbentuk akibat proses autoksidasi, oksidasi enzim, fagositosis pada proses respirasi, transfor elektron dalam mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi (Yuslanti, 2018).

Proses autoksidasi merupakan senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik, atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Dalam proses oksidasi enzim menghasilkan senyawa oksidan asam hipoklori

sekitar 70-90 % konsumsi O<sub>2</sub> oleh sel fagosit diubah menjadi superokksida dan OH serta HOCl membentuk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan bantuan bakteri. Proses fagositosis dalam respirasi yaitu proses fagositosis mikroorganisme oleh sel leukosit menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar. Radikal bebas eksogenus merupakan radikal bebas yang disebabkan dari luar tubuh seperti pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan tambahan dan asap rokok (Sayuti & Yenrina, 2015).

### 2.5.3 Mekanisme Radikal Bebas

Radikal bebas terbentuk ketika radikal bebas mendonorkan satu elektronnya, mengambil satu elektron dari molekul lain atau bergabung dengan molekul nonradikal lainnya. Radikal mempunyai sifat reaktif yang sangat tinggi untuk menarik elektron. Hal ini yang mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi yang menghasilkan radikal baru. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses radikal bebas meliputi reaksi inisiasi, reaksi propagasi dan reaksi terminasi (Yuslanti, 2018).

Reaksi inisiasi terjadi pada awal terbentuknya radikal bebas, pada tahap ini radikal bebas dibentuk dan menyerang lipid. Pada tahap ini radikal bebas mulai terbentuk dari beberapa proses. Suhu tinggi, proses ekstrusi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer akan menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Dekomposisi hidroperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal. Penyerapan sinar UV menghasilkan radikal yang disebabkan oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil. Secara umum degradasi polimer disebabkan oleh penyerapan sinar UV dari autoksidasi radikal. Substrat oksidatif dapat bereaksi dengan

oksidasi khususnya pada temperatur tinggi sehingga menghasilkan radikal (Sayuti & Yenrina, 2015).

Reaksi propagasi mengakibatkan terjadinya pemanjangan rantai radikal. Reaksi ini melanjutkan rangkaian proses oksidasi kedua sehingga reaksi menyebar dan satu molekul radikal dari proses inisiasi dapat menyebabkan oksidasi banyak molekul. Reaksi terminasi merupakan terjadinya reaksi senyawa radikal dengan radikal lain sehingga menurunkan potensi reaksi propagasi (Yuslianti, 2018).

#### **2.5.4 Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas**

Radikal bebas dalam tubuh dapat diperoleh dari sistem endogen (hasil produk metabolisme sel secara normal) dan dapat diperoleh dari sumber eksogen (polusi udara, asap kendaraan, asap rokok dan lain-lain). Pada metabolisme sel normal tubuh akan memproduksi *Radical Oxygen Species* (ROS) yang mempunyai peran penting dalam aktivitas sinyal pada sel yang mempengaruhi metabolisme intra dan ekstraseluler (Suryadinata, 2018). Pada keadaan tubuh normal radikal bebas dapat digunakan untuk melawan inflamasi dan bakteri yang masuk ke dalam tubuh dan dapat berperan untuk mengatur tonus otot polos. Paparan radikal bebas yang berlebihan dapat diakibatkan dari sinar *ultraviolet*, asap rokok, polusi udara, makanan, insektisida dan stress. Radikal bebas yang berlebih merupakan faktor terjadinya degenerasi seluler. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya penyakit-penyakit degenerasi seperti diabetes melitus, jantung koroner, kanker, stroke, demensia dan lain-lain (Sutrisna, 2013).

## 2.6 Antioksidan

### 2.6.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi lipid (Sayuti & Yenrina, 2015). Antioksidan dapat meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya pada senyawa oksidan sehingga dapat memutus rantai radikal bebas (Charlinia, 2016). Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan sistem imunitas tubuh. Secara alami tubuh memiliki senyawa antioksidan untuk perlindungan terhadap serangan radikal bebas. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan sendiri akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh memproduksi antioksidan alami semakin berkurang dengan bertambahnya usia (Sayuti & Yenrina, 2015).

## 2.7 Mekanisme Antioksidan

Antioksidan tubuh mempunyai mekanisme kerja tertentu dalam aktivitasnya. Kadar *malondialdehyde* (MDA) yang tinggi dalam plasma dapat mengakibatkan terjadinya aktivitas oksidasi. Kadar antioksidan yang cukup dalam tubuh dapat menekan aktivitas oksidasi. Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan mendonorkan elektron pada radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan dalam menghambat oksidasi atau reaksi rantai radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan empat macam mekanisme reaksi yaitu reaksi pelepasan hidrogen dari antioksidan, reaksi pelepasan elektron dari antioksidan, reaksi adisi lemak terhadap cincin aromatik pada antioksidan dan

reaksi pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Sayuti & Yenrina, 2015).

### 2.7.1 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh untuk mekanisme pertahanan maupun asupan yang diperoleh dari luar tubuh seperti tumbuhan atau hewan. Antioksidan yang berasal dari tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder seperti golongan flavonoid, tokoferol dan kumarin. Golongan flavonoid sebagai antioksidan dapat digunakan untuk mereduksi radikal bebas sehingga senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antiradikal bebas. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang dihasilkan dari sintesis kimia. Antioksidan sintetik yang diizinkan dan umum digunakan pada campuran makanan adalah *Butylated Hydroxy Anisole* (BHA), *Butylated Hydroxy Toluene* (BHT), dan profil galat (Tristantini *et al.*, 2016). BHA memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih. Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk kristal padat putih, akan memberi efek sinergis apabila dimanfaatkan bersama BHA (Sayuti & Yenrina, 2015).

## 2.8 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara in-vitro maupun in-vivo. Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan sebagai berikut:

### 2.8.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

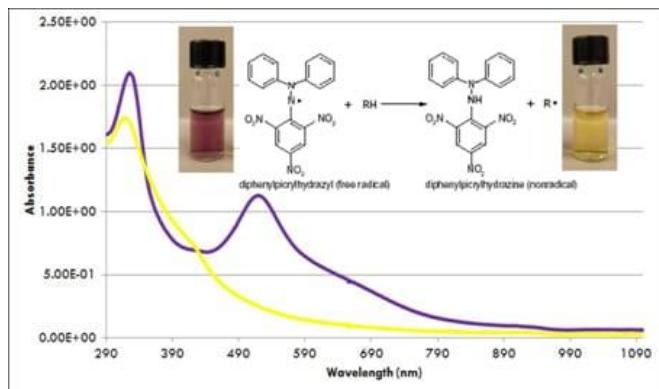
#### a. Definisi DPPH

DPPH merupakan suatu metode sederhana yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan. Peredaman radikal DPPH dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi, hal ini terjadi karena adanya reduksi radikal oleh antioksidan. Metode DPPH dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam pelarut polar maupun pelarut nonpolar. Radikal bebas DPPH yang tidak memiliki pasangan elektron akan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna akan berubah menjadi kuning ketika elektron berpasangan. Perubahan warna yang terjadi berkaitan dengan jumlah elektron DPPH yang berikatan dengan atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengidentifikasi peningkatan antioksidan untuk meredam radikal bebas (Wahyuni, 2015).

#### b. Mekanisme DPPH

Aktivitas antioksidan ekstrak daun mengkudu dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip kerja metode DPPH adalah kemampuan antioksidan pada sampel uji untuk mendonorkan hidrogen pada radikal DPPH, adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas menjadi senyawa non-

radikal. Adanya senyawa antioksidan akan menyebabkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dari warna ungu gelap menjadi warna kuning. Semakin kuat senyawa antioksidan untuk menangkal radikal DPPH, maka warna yang diperoleh akan semakin pudar (Krisnawan *et al.*, 2017).



**Gambar 2. 2** Mekanisme DPPH terhadap aktivitas antioksidan

(Morales-Gonzalez, 2013)

Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa uji dengan suatu radikal bebas. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan sehingga menyebabkan penghilangan warna sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sayuti & Yenrina, 2015). Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC<sub>50</sub>. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Achyadi *et al.*, 2017).

**Tabel 2. 1** Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC <sub>50</sub>
Sangat kuat	<50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	101-150 µg/mL
Lemah	>150 µg/mL

### **2.8.2 FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Metode FRAP merupakan salah satu metode uji aktivitas antioksidan yang dapat digunakan dengan mekanisme kerja berdasarkan pada reaksi reduksi dalam suasana asam terhadap senyawa kompleks Fe<sup>3+</sup> (Kalium heksasianoferat) yang berwarna kuning menjadi senyawa kompleks Fe<sup>2+</sup> yang berwarna hijau kebiruan akibat donor elektron dari senyawa antioksidan. Metode uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP ini dapat dimonitor dengan pengukuran serapan senyawa komplek Fe<sup>2+</sup> yang terbentuk dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 700 nm (Panda, 2012). Kemampuan daya reduksi ion ferri (Fe<sup>3+</sup>) metode FRAP dapat menggambarkan aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan pada metode FRAP umumnya akan menggambarkan aktivitas antioksidan yang tinggi pada senyawa bersifat polar dibandingkan senyawa bersifat nonpolar (Arif *et al.*, 2014).

### **2.8.3 CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)**

Prinsip uji metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capasity*) adalah pembentukan kelat oleh bis (neukropin) besi (II) menggunakan pereaksi redoks kromogenik pada pH 7. Absorbansi dari pembentukan kelat Cu (I) merupakan hasil reaksi redoks dengan mereduksi polifenol yang diukur pada panjang gelombang 450 nm. Untuk spektrum Cu (I) Ne diperoleh dengan mereaksikan asam askorbat berbagai konsentrasi reagen, pH dan waktu oksidasi pada suhu kamar dan peningkatan suhu pada percobaan dapat berasal dari sumber lain (Haeria *et al.*, 2018).

## 2.9 Kuersetin

Kuersetin merupakan senyawa flavonoid utama yang termasuk ke dalam golongan flavonol. Kuersetin banyak ditemukan dalam berbagai tanaman, bahan makanan, buah-buahan, dan juga bermanfaat untuk kesehatan. Mekanisme kerja kuersetin yaitu ketika flavonol kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal. Sehingga elektron tidak berpasangan yang dihasilkan didelokalisasikan ke dalam sistem aromatik sehingga senyawa radikal kuersetin memiliki energi yang sangat rendah dan relatif kurang reaktif, oleh karena itu senyawa ini sangat baik menghambat radikal bebas (Maesaroh *et al.*, 2018).

## 2.10 Tinjauan Metode Ekstraksi

### 2.10.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan yang didasarkan pada perpindahan massa komponen kimia yang terdapat dalam sampel ke dalam pelarut. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut ke dalam pelarutnya. Secara umum metode ekstraksi dibedakan berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan. Pemanasan ini sangat berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi dan juga bergantung pada senyawa target yang diharapkan (Sudarwati & Fernanda, 2019).

### 2.10.2 Macam-macam Ekstraksi

#### a. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana, dengan cara melakukan perendaman sampel menggunakan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar.

Prinsip kerja pada metode ini yaitu, pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel sampel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Ilyas, 2013). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Metode ini dipilih karena dari hasil penelitian (Dewi, 2021) yang telah melakukan penelitian perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluksasi terhadap uji aktivitas antioksidan daun mengkudu dengan hasil yang diperoleh yaitu proses ekstraksi secara dingin (maserasi) menghasilkan senyawa metabolit sekunder lebih banyak dan senyawa antioksidan yang didapatkan lebih baik dibandingkan dengan proses ekstraksi secara panas (refluksasi).

### **b. Perkolasi**

Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia dengan cara mengaliri atau melewatkkan pelarut yang sesuai secara lambat terhadap sampel dalam suatu alat yang disebut perkulator. Metode ini bertujuan supaya zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan. Prinsip kerja metode ini yaitu, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui sampel tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri. Kekuatan yang berperan pada metode perkolasai antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi,

osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi) (Sudarwati & Fernanda, 2019).

**c. Sokletasi**

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Sokletasi digunakan pada pelarut organik tertentu. Dengan proses pemanasan, uap yang timbul setelah dingin secara berkelanjutan akan membasahi sampel, secara teratur pelarut tersebut masuk kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi. Pelarut yang telah membawa senyawa kimia pada labu destilasi diuapkan dengan rotary evaporator sehingga pelarut akan menguap dan akan didapatkan ekstrak yang diinginkan (Sudarwati & Fernanda, 2019).

**d. Reflukstasi**

Salah satu metode ekstraksi senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam proses ekstraksi menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip kerja dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N<sub>2</sub> diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada

senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif (Sudarwati & Fernanda, 2019).

### **2.10.3 Pelarut**

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi untuk pengambilan suatu zat merupakan faktor yang paling penting. Pemilihan jenis pelarut yang tidak sesuai dapat mempengaruhi hasil ekstrak yang diperoleh, menurut prinsip *like dissolves like* pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Senyawa yang bersifat polar akan larut dengan pelarut polar dan senyawa bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Dalam pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu selektivitas, mudah diperoleh, stabil, mudah untuk diuapkan dan murah (Suryani *et al.*, 2016).

Pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi yaitu pelarut etanol, methanol, kloroform dan air. Pemilihan jenis pelarut harus disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam sampel. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% dalam proses ekstraksi. Pelarut etanol dapat melarutkan senyawa kimia yang terkandung dalam daun mengkudu seperti senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, tanin dan saponin sehingga pelarut ini sesuai untuk digunakan (Riwanti *et al.*, 2020).

## **2.11 Spektrofotometer UV-Vis (*Ultraviolet Visible*)**

### **2.11.1 Definisi Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis adalah instrumen yang digunakan untuk pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar *ultraviolet* dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel (Suarsa, 2015). Sepktrofotometer UV-Vis

merupakan salah satu instrumen yang sering digunakan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa padat atau cair berdasarkan absorbansi foton. Sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-Vis (Irawan, 2019). Sinar *ultraviolet* berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Suarsa, 2015). Mekanisme kerja instrumen ini didasarkan pada interaksi sampel dengan radiasi elektromagnetik. Apabila radiasi (cahaya) terkena pada sampel, maka sebagian cahaya akan diserap oleh molekul-molekul pada sampel. Setiap sampel memiliki tingkatan tenaga senyawa yang spesifik (Wahyuni, 2015).

### **2.11.2 Jenis Spektrofotometer**

Secara umum terdapat 2 jenis tipe instumen spektrofotometer yaitu *single-beam* dan *double-beam*. Spektrofotometer *single-beam* dapat digunakan untuk uji kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Instrumen ini dapat digunakan untuk pengukuran sinar *ultraviolet* dan sinar tampak. Panjang gelombang yang ada pada spektrofotometer *single-beam* paling rendah 190–210 nm dan paling tinggi 800-1000 nm. Spektrofotometer *double-beam* memiliki 2 sinar yang terbentuk dari potongan cermin berbentuk V yang disebut pemecah sinar (Suhartati, 2017).

### **2.11.3 Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Vis**

Komponen pokok pada instumen spektrofotometer terdiri dari 4 bagian yaitu sumber radiasi/cahaya, monokromator, kuvet dan detektor.

**a. Sumber Radiasi**

Sumber radiasi merupakan energi yang memancarkan radiasi elektromagnetik (Suarsa, 2015).

**b. Monokromator**

Monokromator adalah alat yang digunakan untuk menghasilkan berkas radiasi dengan satu panjang gelombang. Monokromator berfungsi untuk mengubah cahaya dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Monokromator terdiri dari prisma, kisi difraksi, celah (slit), filter (Suhartati, 2017). Prisma berfungsi untuk mendispersikan radiasi elektromagnetik sehingga dihasilkan resolusi yang tinggi dari radiasi polikromatis. Kisi difraksi berfungsi untuk menyebarluaskan dispersi sinar secara merata. Celah (slit) berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis dari sumber radiasi. Filter berfungsi untuk menyerap warna komplementer (Suarsa, 2015).

**c. Kuvet**

Kuvet berfungsi sebagai tempat sampel yang akan dianalisis. Kuvet terbuat dari kuarsa atau gelas dengan bentuk persegi panjang dan lebar 1 cm.

**d. Detektor**

Detektor berfungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan dirubah menjadi arus listrik. Secara umum detektor terdiri dari 2 macam yaitu phototube dan photomultiplier dengan panjang gelombang 150-1000 nm (Suarsa, 2015).

#### 2.11.4 Sumber Radiasi Spektrofotometer UV-Vis

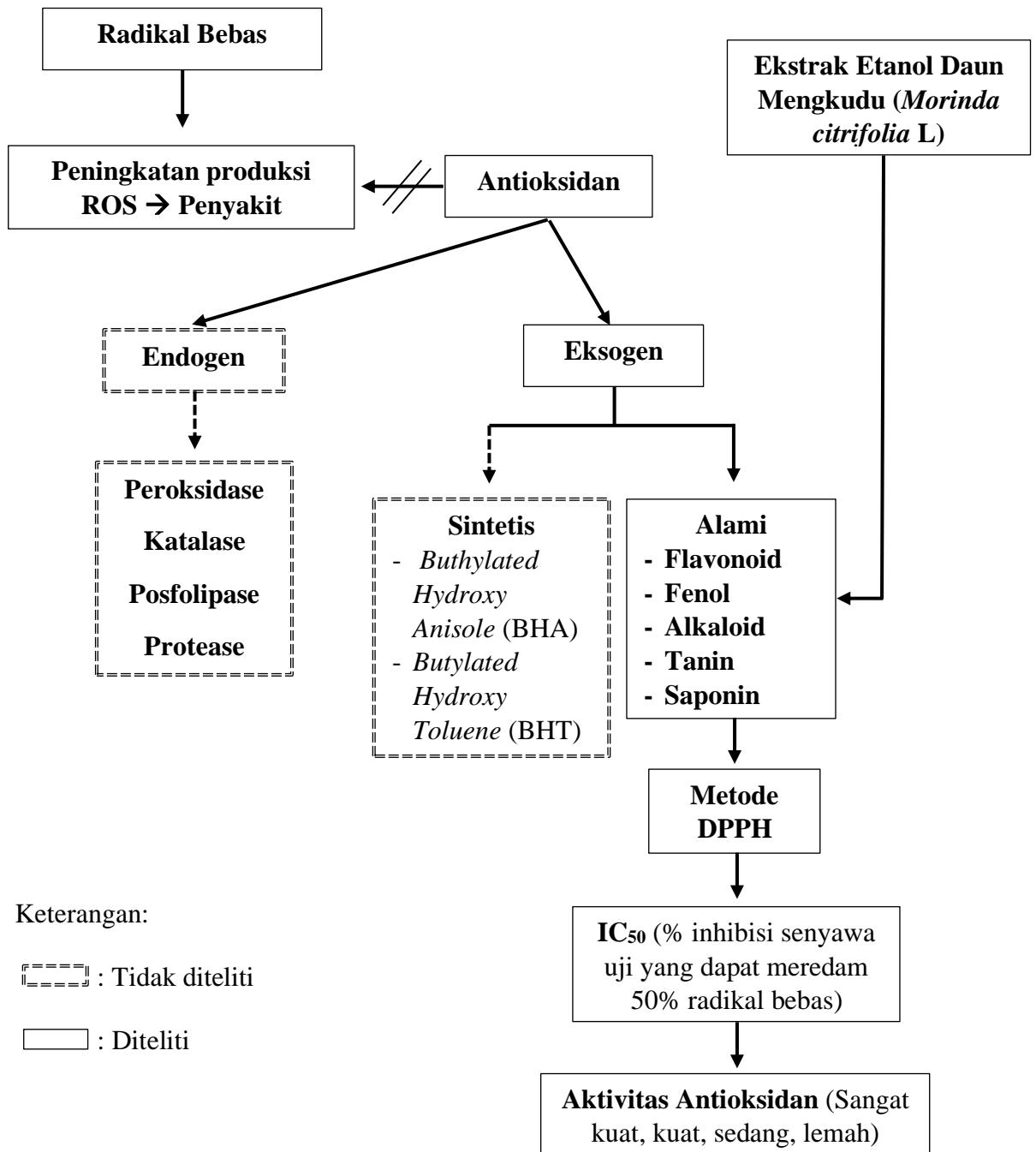
Sumber radiasi spektrofotometer UV-Vis terdapat dari 2 sumber pada instrumen spektrofotometer UV-Vis yaitu lampu tungsten (*wolfarm*) dan lampu dauterium. Lampu tungsten digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak dengan panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasinya berbentuk garis lengkung. Lampu dauterium digunakan pada daerah panjang gelombang antara 190-380 nm dengan spektrum energi radiasinya lurus dan digunakan untuk mengukur sampel pada daerah uv (Suarsa, 2015).

**Tabel 2. 2** Spektrum sinar tampak

Panjang gelombang (nm)	Warna yang diserap	Warna komplementer
400 – 435	Ungu	Hijau kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Ungu
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Biru kehijauan
610 – 800	Merah	Hijau kebiruan

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3. 1 Kerangka konseptual

### **3.2 Hipotesis**

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap permasalahan yang menjadi objek pada penelitian.

H0: Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) menggunakan metode DPPH.

Ha: Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) menggunakan metode DPPH.

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *experimental laboratories* yang merupakan metode penelitian digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap sampel lain dalam kondisi terkendali (Sugiono, 2016). Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

### **4.2 Populasi**

Populasi merupakan keseluruhan dari subjek yang digunakan dalam penelitian (Magfirah, 2018). Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia L*).

### **4.3 Sampel Penelitian**

Sampel merupakan bagian dari populasi yang akan diteliti (Magfirah, 2018). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) yang telah dikeringkan dan diserbukkan yang diperoleh dari Desa Arosbaya, Kabupaten Bangkalan, Jawa Timur Indonesia.

### **4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Biologi Universitas dr. Soebandi Jember dan dimulai pada bulan Mei 2022 sampai selesai.

## **4.5 Variabel Penelitian**

### **4.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan dari variabel terikat (Sugiono, 2016). Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*).

### **4.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat dari variabel bebas (Sugiono, 2016). Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) dengan penentuan nilai IC<sub>50</sub>.

### **4.5.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah metode ekstraksi simplisia daun mengkudu, metode skrining fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*).

#### 4.6 Definisi Operasional

**Tabel 4. 1** Definisi operasional

Variabel	Perngertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur	Indikator
Aktivitas	Nilai absorbansi	Dipipet masing-masing larutan uji	Spektrofoto meter UV-vis	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sangat kuat</li> <li>• Kuat</li> <li>• Sedang</li> <li>• Lemah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hasil &lt;50 µg/mL</li> <li>• Hasil 50-100 µg/mL</li> <li>• Hasil 101-150 µg/mL</li> <li>• Hasil &gt;150 µg/mL</li> </ul>
Antioksidan	sampel ekstrak daun mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ) yang didapatkan kemudian dihitung nilai inhibisi yang ditunjukkan dengan nilai penghambatan 50% ( $IC_{50}$ ).	dengan ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm), ditambahkan larutan DPPH ad homogen, kemudian diinkubasi dan diukur serapan aktivitas antioksidan pada panjang gelombang maksimum.				

## **4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data**

### **4.7.1 Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Biobase BK-D560 UV-VIS), mikropipet (Nesco), blender (Philips), *stopwatch*, *waterbath* (Faithful), timbangan analitik (Pioneer), peralatan gelas laboratorium, alumunium foil, kuvet, kertas saring.

#### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun mengkudu, etanol teknis 70%, etanol pro analisis (Merck), aquadest, asam sulfat pekat, kuersetin (Sigma-Aldrich), pereaksi mayer, HCl pekat, Besi (III) klorida, dan senyawa DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma-Aldrich).

### **4.7.2 Teknik Pengolahan Data**

#### **1. Determinasi Daun Mengkudu**

Determinasi daun mengkudu dilakukan dengan membawa bagian daun tanaman mengkudu untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia. Determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Jember.

#### **2. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Mengkudu**

Pembuatan simplisia daun mengkudu dilakukan dengan mengumpulkan daun mengkudu kemudian disortasi basah dan kering. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan benda asing dari tanaman. Daun mengkudu dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Dipotong kecil daun mengkudu untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan

dengan cara diangin-anginkan dan terhindar dari sinar matahari langsung. Simplisia yang sudah kering dibuat serbuk dengan blender dan disimpan pada wadah plastik yang tertutup rapat (Lidyawati *et al.*, 2021).

### **3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu**

Pembuatan ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L*) pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Serbuk simplisia daun mengkudu ditimbang 200 mg dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70%, ditutup wadah dengan aluminium foil direndam selama 3 hari dan diaduk setiap 1x24 jam selama 5 menit. Setelah 3 hari sampel disaring menggunakan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *waterbath* dan residu yang diperoleh diremaserasi menggunakan pelarut 70% selama 2 hari dan diaduk setiap 1x24 jam selama 5 menit. Setelah 2 hari sampel disaring menggunakan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *waterbath* sampai pelarut habis menguap sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental ditimbang dan disimpan pada wadah gelas tertutup rapat (*Hasim et al.*, 2019).

### **4. Skrining Fitokimia**

#### **a. Uji Alkaloid**

Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 40 mg ekstrak daun mengkudu yang ditambahkan dengan beberapa tetes HCl 1% hingga larut kemudian ditambahkan pereaksi mayer 1 mL, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Indikator positif dari uji alkaloid adalah terbentuknya endapan putih atau keruh (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

**b. Uji Flavonoid**

Uji Flavonoid dilakukan dengan cara mencampurkan 40 mg ekstrak dengan 100 mL air panas, didihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat kemudian dikocok. Uji positif flavonoid apabila terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Wijaya *et al.*, 2014).

**c. Uji Tanin**

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan dengan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kehitaman (Nugrahani *et al.*, 2016).

**d. Uji Saponin**

Diambil 40 mg ekstrak daun mengkudu masukkan dalam tabung reaksi ditambahkan aquadest 10 mL kocok selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl. Uji positif saponin apabila terbentuk busa stabil selama ± 7 menit (Wijaya *et al.*, 2014).

**e. Uji Fenolik**

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Wijaya *et al.*, 2014).

## 5. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

### a. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang serbuk DPPH 5 mg masukkan ke dalam tabung reaksi dilarutkan dengan etanol p.a (*pro analisa*), kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 50 ppm (Basuki, 2021).

### b. Penentuan Panjang Gelombang

Dipipet larutan DPPH sebanyak 2 mL kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan tentukan panjang gelombang serapan maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 400-800 nm. (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

### c. Pembuatan Larutan Blanko

Dipipet 2 mL larutan DPPH (0,1 mM) ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol p.a (*pro analisa*) sebanyak 2 mL, dihomogenkan dengan vortex. Setelah itu diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Serapan blanko diukur pada panjang maksimum (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

### d. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Mengkudu

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara ditimbang ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a ad homogen, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL ditambahkan etanol p.a hingga didapatkan konsentrasi larutan induk 1000 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm dengan cara dipipet sejumlah

tertentu larutan sampel induk dan ditambahkan etanol p.a hingga diperoleh konsentrasi larutan uji masing-masing ekstrak (Basuki, 2021).

#### e. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Ditimbang kuersetin sebanyak 2 mg dilarutkan dengan etanol p.a (*pro analisa*) secukupnya, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi kuersetin 200 ppm. Dari larutan induk dibuat seri konsentrasi menjadi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm (Basuki, 2021).

#### f. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi senyawa uji dengan DPPH dan senyawa kuersetin dengan DPPH. Larutan kuersetin dipipet 0,5 mL, kemudian ditambahkan larutan DPPH 3,5 mL. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dari menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Nugroho, 2021).

#### g. Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) dan Larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara dipipet 0,5 mL larutan uji ekstrak dalam setiap seri konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 dan 250 ppm) dan dipipet 0,5 mL larutan kuersetin dalam setiap konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm). Kemudian ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH, campurkan dan kocok hingga homogen, kemudian diinkubasi dan diukur serapan aktivitas antioksidan pada panjang

gelombang maksimum, pengujian ini dilakukan replikasi 3 kali (Nugroho, 2021).

#### **h. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>**

Penentuan nilai IC<sub>50</sub> sampel uji ekstrak etanol daun mengkudu dengan kuersetin sebagai kontrol positif, menggunakan metode inhibisi radikal bebas DPPH dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100$$

Keterangan:

A<sub>blanko</sub> = Absorbansi tidak mengandung sampel

A<sub>sampel</sub> = Absorbansi sampel (Yahya *et al.*, 2020).

### **4.8 Analisis Data**

Hasil data pemeriksaan skrining fitokimia dibuat dalam bentuk tabel dan dibandingkan dengan literatur untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dalam sampel uji. Hasil uji aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linier  $y = bx + a$ . Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi zat antioksidan yang menghasilkan persen penghambatan DPPH sebesar 50%. Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh melalui persamaan regresi linear antara persen inhibisi dengan konsentrasi sampel. Semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> maka daya hambat ekstrak terhadap radikal bebas semakin tinggi.

#### 4.9 Standar Operasional Prosedur (SOP)

**Tabel 4. 2** Standar operasional prosedur

Kegiatan	Prosedur
Pembuatan simplisia daun mengkudu	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan daun dari cabang pohon</li> <li>- Disortasi basah</li> <li>- Dicuci menggunakan air mengalir</li> <li>- Dilakukan perajangan daun</li> <li>- Daun diangin-anginkan sampai kering</li> <li>- Disortasi kering</li> </ul>
Pembuatan ekstrak daun mengkudu	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Simplisia daun mengkudu di haluskan menggunakan alat</li> <li>- Ditimbang serbuk daun mengkudu dan diukur etanol 70%</li> <li>- Dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam dan dilakukan remerasasi selama 2x24 jam.</li> <li>- Filtrat yang dihasilkan dari penyaringan, diuapkan menggunakan <i>waterbath</i> hingga mendapatkan ekstrak kental.</li> <li>- Hitung % rendemen.</li> </ul>
Skrining fitokimia ekstrak daun mengkudu	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengambil larutan uji ekstrak etanol daun mengkudu ditambahkan atau direaksikan dengan pereaksi.</li> <li>- Diamati perubahan yang terjadi pada larutan uji setelah ditambahkan dengan pereaksi</li> <li>- Dilihat dari adanya perubahan warna, endapan, maupun adanya busa.</li> </ul>
Pengujian aktivitas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Membuat larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm.</li> </ul>

- 
- antioksidan
- Menentukan Absorbansi larutan DPPH yang diukur pada panjang gelombang 400-800 nm.
  - Pembuatan larutan uji ekstrak menggunakan etanol 70% dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm.
  - Pembuatan larutan pembanding kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm.
  - Dilakukan optimasi waktu inkubasi yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60.
  - Dilakukan pengujian aktivitas antioksidan larutan uji ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dan kuersetin (replikasi 3x)
  - Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> berdasarkan rumus % inhibisi

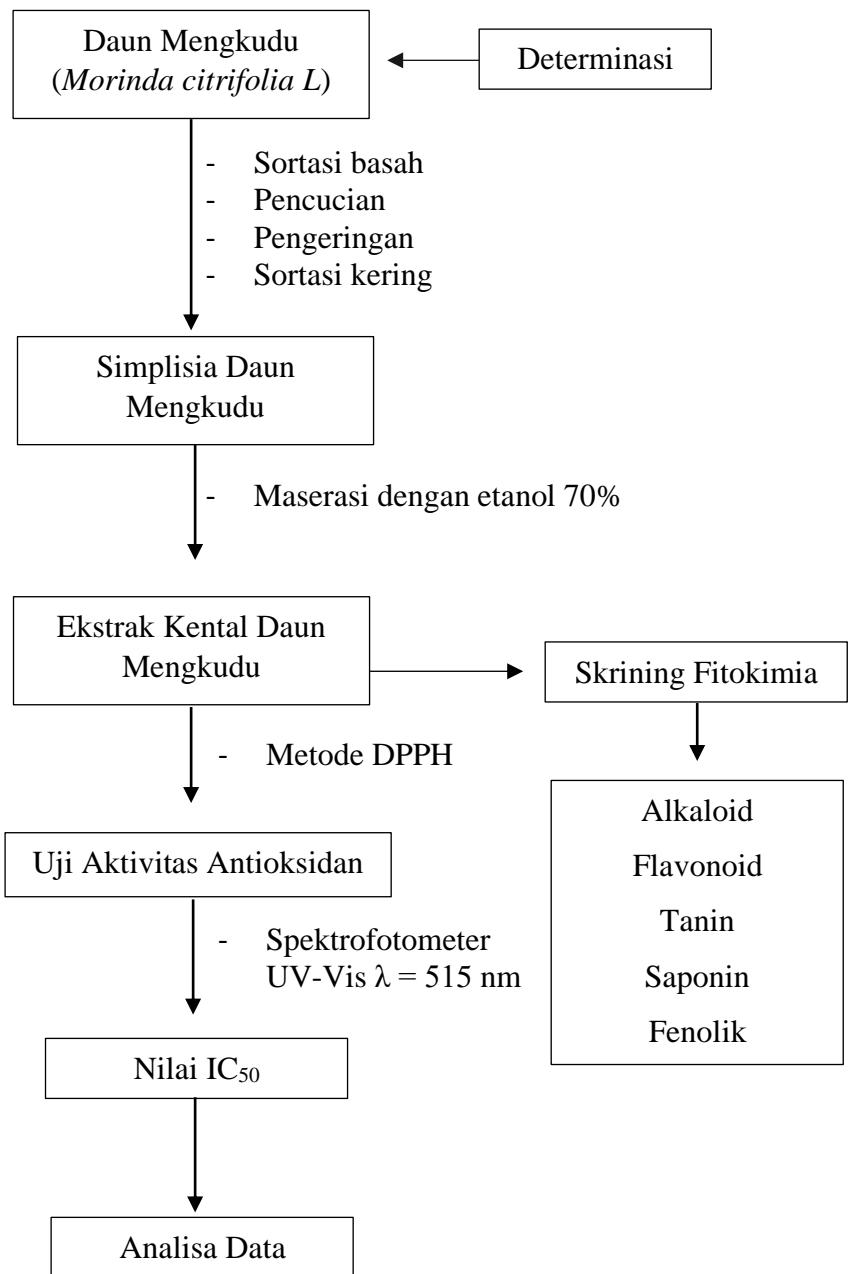
---

Pengolahan data

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100$$

---

#### 4.10 Kerangka Operasional



**Gambar 4. 1** Kerangka operasional

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun mengkudu yang digunakan dalam penelitian merupakan spesies *Morinda citrifolia* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada (Lampiran 2).

### 5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak dari desa Arosbaya Kabupaten Bangkalan. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun mengkudu. Kemudian daun yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penghalusan sampel. Berat serbuk simplisia yang diperoleh sebanyak 500 gram. Proses pembuatan simplisia dapat dilihat pada (Lampiran 3).

### 5.3 Hasil Ekstraksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L)

Ekstraksi dilakukan dengan memasukkan 200 gram serbuk simplisia daun mengkudu ke dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter. Wadah ditutup rapat dan didiamkan selama 3 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi 1 kali. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan selama 5 menit 1x24 jam. Hasil perendaman kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filrat yang diperoleh dikentalkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60 °C. Ekstrak kental daun mengkudu didapatkan sebanyak

40,99 gram. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada (Lampiran 4) dan perhitungan hasil rendemen dapat dilihat pada (Lampiran 5)

**Tabel 5. 1** Hasil ekstrak etanol daun mengkudu

Sampel	Berat Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen (%)
Daun mengkudu	200 gram	40,99 gram	20,49 %

#### 5.4 Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa kimia flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan tanin. (Lampiran 6)

**Tabel 5. 2** Hasil skrining fitokimia

Skrining Fitokimia	Reagen	Hasil
Uji Alkaloid	HCl 1% + Mayer	+
Uji Fenolik	FeCl3 1%	+
Uji Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	+
Uji Saponin	Aquadest + HCl	+
Uji Tanin	Air panas + FeCl3 1%	+

Keterangan:

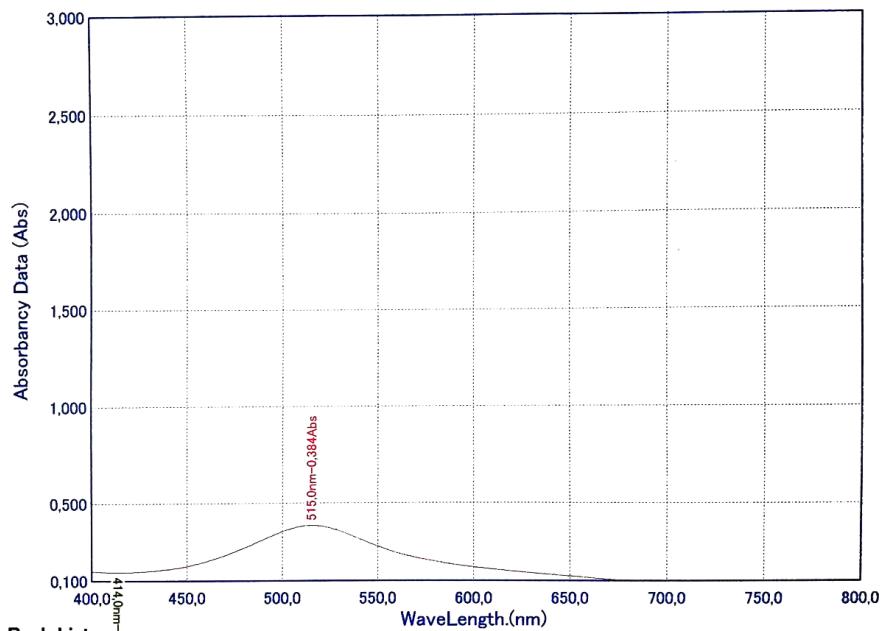
(+) positif : Mengandung golongan senyawa

(-) negatif : Tidak mengandung golongan senyawa

#### 5.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

##### 5.5.1 Pengukuran Absorbansi DPPH

Penentuan panjang gelombang larutan DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan hasil serapan maksimum sebesar 0,384 pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1 (Lampiran 7)



**Gambar 5. 1** Kurva panjang gelombang DPPH

### 5.5.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan pada larutan senyawa pembanding kuersetin terhadap senyawa DPPH. Hasil uji optimasi waktu inkubasi didapatkan waktu terbaik pada menit ke-50 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 25,992  $\mu\text{g/mL}$  dan nilai  $r$  sebesar 0,9009.

### 5.5.3 Hasil Pengujian Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin

Pengujian ekstrak etanol daun mengkudu dan senyawa kuersetin dilakukan inkubasi selama 50 menit dan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengujian dihitung untuk mencari persen inhibisi. Hasil perhitungan persen inhibisi ekstrak etanol daun mengkudu dan senyawa kuersetin terhadap radikal bebas DPPH dapat dilihat pada tabel 5.3.

**Tabel 5. 3** Hasil analisis persen inhibisi

<b>Sampel</b>	<b>Konsentrasi</b>	<b>Absorbansi</b>			<b>% Inhibisi</b>		
		<b>Rep I</b>	<b>Rep II</b>	<b>Rep III</b>	<b>Rep I</b>	<b>Rep II</b>	<b>Rep III</b>
Daun Mengkudu	50	0,328	0,326	0,326	48,3	48,6	48,6
	100	0,311	0,310	0,309	51	51,2	51,3
	150	0,308	0,308	0,307	51,5	51,5	51,6
	200	0,295	0,295	0,294	53,5	53,5	53,7
	250	0,276	0,276	0,264	56,5	56,5	58,4
Kuersetin	10	0,354	0,353	0,349	31,5	31,8	32,4
	20	0,327	0,310	0,303	36,7	40	41,4
	30	0,315	0,299	0,299	39,1	42,2	42,2
	40	0,275	0,240	0,235	46,8	53,6	54,5
	50	0,236	0,234	0,223	54,3	54,7	56,8

#### **5.5.4 Hasil Analisis Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin**

Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari hasil perhitungan persamaan regresi linear antara konsentrasi larutan uji dengan persen inhibisi. Hasil nilai IC<sub>50</sub> larutan uji ekstrak dibandingkan dengan hasil nilai IC<sub>50</sub> senyawa pembanding kuersetin. Hasil analisis nilai IC<sub>50</sub> larutan uji ekstrak dan senyawa kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.4.

**Tabel 5. 4** Hasil analisis nilai IC<sub>50</sub>

<b>Sampel</b>	<b>Replikasi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>	<b><math>\bar{X} \pm RSD</math></b>	<b>Kategori</b>
Daun Mengkudu	1	93		
	2	87,6	83,7±12,09	Kuat
	3	70,5		
Kuersetin	1	42,1		
	2	39,3	39,6±2,41	Sangat kuat
	3	37,3		

Berdasarkan hasil nilai pengujian ekstrak etanol daun mengkudu dengan replikasi 3 kali menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki termasuk dalam kategori kuat dengan hasil nilai rata-rata  $IC_{50}$  sebesar 83,7 ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan nilai  $SD = 12,09$ . Nilai rata-rata  $IC_{50}$  senyawa kuersetin sebesar 39,6 ( $\mu\text{g/mL}$ ) termasuk dalam kategori sangat kuat dengan nilai  $SD = 2,41$ .

## BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN

Determinasi tanaman dilakukan pada awal penelitian sebelum proses ekstraksi dilakukan untuk menunjukkan bahwa bagian tanaman yang akan digunakan dalam penelitian benar adalah daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Determinasi tanaman dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu Politeknik Negeri Jember dengan nomor 062/PL17.8/PG/2022. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah (*Morinda citrifolia* L.).

Pada penelitian ini daun mengkudu yang digunakan berasal dari desa Arosbaya Kabupaten Bangkalan. Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan meliputi pemetikan daun, sortasi daun untuk memilah daun yang rusak, pencucian daun dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, perajangan daun untuk mempercepat proses pengeringan daun, sortasi daun dari kotoran yang menempel pada proses pengeringan dan penghalusan daun menggunakan blender. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam sampel dan penghalusan sampel bertujuan untuk memaksimalkan proses penyarian (M. Sari *et al.*, 2021).

Ekstraksi merupakan proses pengambilan senyawa kimia dari sampel. Proses ekstraksi simplisia menggunakan metode maserasi dimana metode ini dilakukan dengan merendam simplisia dalam suatu pelarut pada suhu ruangan tanpa proses pemanasan (Ilyas, 2013). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70%. Kelebihan ekstraksi dengan metode maserasi adalah pengeraaan yang lebih sederhana, murah dan dapat digunakan pada sampel yang

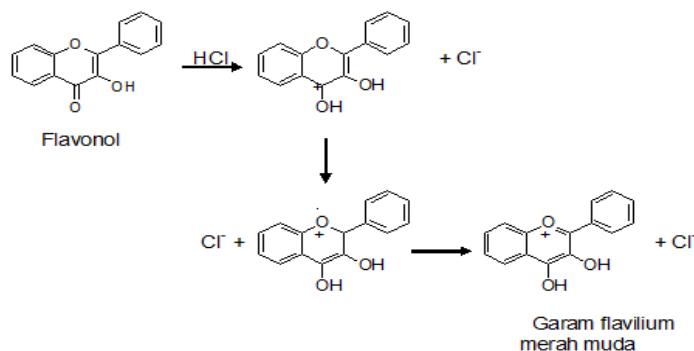
memiliki sifat termolabil (M. Sari *et al.*, 2021). Mekanisme metode maserasi adalah proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang ada dalam tumbuhan. Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak senyawa yang kurang tahan terhadap proses pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Senyawa yang akan terbawa pada proses ekstraksi adalah senyawa-senyawa yang memiliki polaritas yang sesuai dengan pelarut yang digunakan. Dalam proses ekstraksi, senyawa aktif dalam suatu tanaman akan mudah terlarut atau terikat oleh pelarut sesuai dengan sifat kepolarannya. Larutan etanol yang bersifat polar akan lebih mudah mengekstrak senyawa senyawa-senyawa dalam jaringan tanaman. Hal ini sesuai dengan prinsip “like dissolve like” dimana larutan yang bersifat polar akan berikatan dengan senyawa polar lainnya begitu pula sebaliknya, larutan yang bersifat nonpolar akan mengikat senyawa nonpolar (Suryani *et al.*, 2016).

Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental. Setelah didapatkan ekstrak kental dilanjutkan dengan menghitung rendemen. Rendemen adalah rasio berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia yang dieksraksi. Nilai rendemen mencerminkan banyaknya senyawa kimia yang tersari dalam pelarut dimana semakin besar nilai rendemen maka semakin banyak nilai senyawa aktif yang tersari (Santoso *et al.*, 2020). Pada penelitian ini serbuk simplisia yang digunakan pada proses ekstraksi sebanyak 200 gram, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 40,99 gram dan rendemen yang dihasilkan sebesar 20,49%. Penggunaan pelarut dalam proses

ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin banyak senyawa aktif yang tersari.

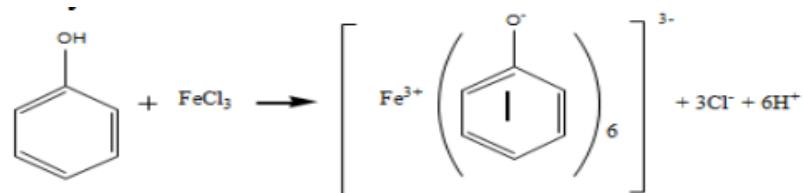
Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mengkudu. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa kimia flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Musfirah *et al.*, 2019) yang menyebutkan bahwa kandungan senyawa kimia dalam daun mengkudu antara lain adalah flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan tanin. Pelarut etanol bersifat polar sehingga mampu menyari senyawa-senyawa kimia yang bersifat polar (Verdiana *et al.*, 2018).

Pada penelitian ekstrak etanol daun mengkudu yang direaksikan dengan serbuk magnesium dan HCl pekat terjadi perubahan warna menjadi kuning. Pada uji flavonoid sampel positif mengandung flavonoid apabila terbentuknya warna merah, kuning atau jingga akibat dari adanya reduksi dengan magnesium dan HCl pekat (Yuliastuti *et al.*, 2017). Pada penelitian ini warna yang dihasilkan yaitu warna kuning yang menandakan ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa flavonoid.



**Gambar 6. 1** Reaksi flavonoid dengan reagen Mg dan HCl

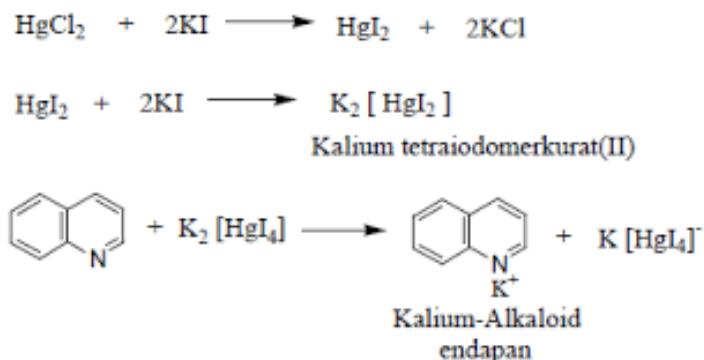
Uji kualitatif senyawa fenolik dilakukan dengan cara menambahkan  $FeCl_3$  1%, yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat, hal ini terjadi ketika  $FeCl_3$  bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol. Perubahan warna disebabkan karena adanya reaksi kompleks antara senyawa fenol dan  $FeCl_3$  karena adanya transisi elektron dari ion pusat akibat adanya ligan (Ramayani *et al.*, 2021). Hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu menghasilkan warna hitam yang menandakan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa fenol.



**Gambar 6. 2** Reaksi fenol dengan reagen  $FeCl_3$

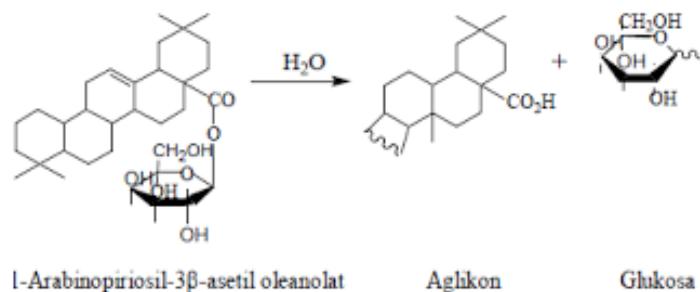
Pada penelitian ekstrak etanol daun mengkudu yang direaksikan dengan HCl dan pereaksi mayer terjadi endapan putih . Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodomerurat (II)

sehingga membentuk senyawa kompleks dan mengendap. Hal ini dikarenakan ion merkuri merupakan ion logam berat yang mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa (Yuliastuti *et al.*, 2017). Hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu adanya endapan putih yang menandakan ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa alkaloid.



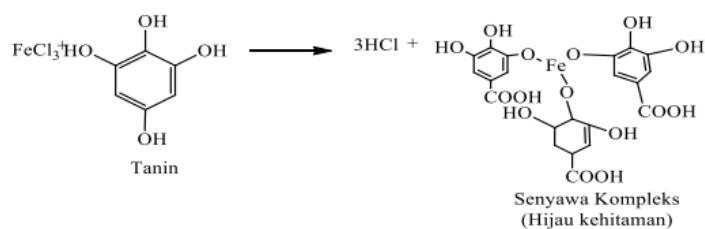
**Gambar 6. 3** Reaksi alkaloid dengan reagen HCl dan mayer

Pada pengujian ekstrak etanol daun mengkudu dengan aquadest, diberi perlakuan penggojokan dan pemberian HCL menghasilkan busa stabil. Buih atau busa yang dihasilkan pada pengujian ini bersifat stabil. Penambahan HCl mampu membuat busa lebih mantap dan stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (hidrofobik) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Saat digojok, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih (Sulistyarini *et al.*, 2020). Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa saponin.



**Gambar 6. 4** Reaksi hidrolisis saponin dalam air

Pada penelitian dilakukan uji tanin dengan mereaksikan ekstrak dengan FeCl<sub>3</sub> 1% didapatkan perubahan warna hijau kehitaman. Hasil uji apabila terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Marjoni & Ismail, 2016). Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, oleh karena itu ketika sampel ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 1% akan terhidrolisis dan terjadi perubahan warna seperti biru atau hijau kehitaman (Sulistyarini *et al.*, 2020). Penelitian yang telah dilakukan menghasilkan warna hijau kehitaman, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa tanin



**Gambar 6. 5** Reaksi tanin dengan reagen FeCl<sub>3</sub>

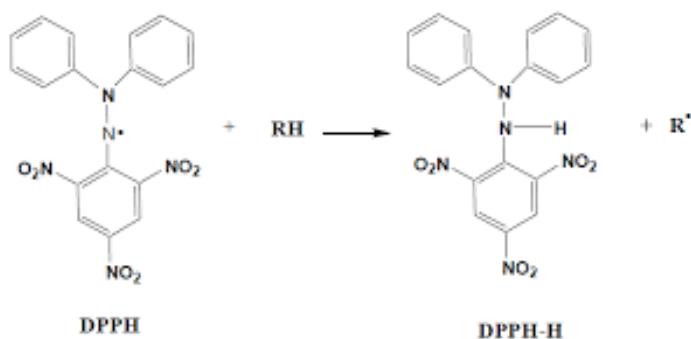
Aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode inhibisi DPPH. Penentuan aktivitas inhibisi radikal bebas DPPH dilakukan pada panjang gelombang 515 nm, nilai ini sesuai dengan penelitian (Saptari *et al.*, 2019) yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 515 nm. Gugus

kromofor dan auksokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Sesuai dengan prinsip kerja Spektrofotometer UV-Visible yang mengasorpsi larutan warna pada panjang gelombang 400-800 nm, maka larutan kompleks ungu itulah yang akan ditentukan nilai absorbannya dengan panjang gelombang yang sesuai sehingga kadar dari larutan sampel dapat diketahui.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan senyawa pembanding kuersetin. Setelah panjang gelombang maksimum DPPH didapatkan dilanjutkan dengan optimasi waktu inkubasi kuersetin dengan konsentrasi kuersetin yang digunakan yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Pengujian optimasi waktu inkubasi dilakukan selama 60 menit dan dibaca serapan absorbansinya selang waktu 10 menit. Hasil optimasi waktu inkubasi didapatkan nilai IC<sub>50</sub> paling rendah pada menit ke-50 didapatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 25,992 µg/mL dengan nilai r = 0.9009. Nilai r yang didapatkan kurang bagus, hal ini dapat dikarenakan beberapa faktor seperti, pengaruh personaliti dan suhu pada saat proses penelitian (Sadeli, 2016). Hasil waktu yang didapatkan dari pengujian optimasi waktu inkubasi akan digunakan untuk pengujian ekstrak dan kuersetin.

Uji kualitatif aktivitas antioksidan menggunakan DPPH terhadap ekstrak etanol daun mengkudu menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu memiliki aktivitas antioksidan. DPPH adalah radikal bebas stabil berwarna ungu gelap. Saat DPPH bereaksi dengan senyawa yang mengandung antioksidan, warna ungu pada senyawa DPPH akan berkurang atau berubah menjadi kuning (Januarti *et al.*,

2019). Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu ketika elektron tunggal DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan. Hasil dekolorisasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap. Mekanisme penangkapan radikal ditunjukkan pada reaksi dibawah ini:



**Gambar 6. 6** Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan

Pengujian senyawa antioksidan menggunakan DPPH memiliki beberapa keuntungan antara lain metode sederhana, mudah dilakukan, cepat, sensitif, sampel yang dibutuhkan sedikit dan memiliki stabilitas yang tinggi dalam kondisi penyimpanan (Rahmawati *et al.*, 2016). Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah dengan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui aktivitas peredaman dari radikal bebas dalam nilai IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi suatu senyawa yang mampu meredam radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan aktivitas peredaman yang semakin tinggi (Achyadi *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu terhadap DPPH menggunakan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm,

200 ppm, 250 ppm dan waktu inkubasi selama 50 menit, pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Hasil pengujian ekstrak etanol daun mengkudu terhadap DPPH didapatkan nilai % inhibisi pada replikasi 1 konsentrasi 50 ppm sebesar 48,3%, 100 ppm sebesar 51%, 150 ppm sebesar 51,5%, 200 ppm sebesar 53,5%, dan 250 ppm sebesar 56,5%, untuk replikasi 2 pada konsentrasi 50 ppm sebesar 48,6%, 100 ppm sebesar 51,2%, 150 ppm sebesar 51,5%, 200 ppm sebesar 53,5%, dan 250 ppm sebesar 56,5%, untuk replikasi 3 pada konsentrasi 50 ppm sebesar 48,6%, 100 ppm sebesar 51,3%, 150 ppm sebesar 51,6%, 200 ppm sebesar 53,7%, dan 250 ppm sebesar 58,4%. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun mengkudu didapatkan dari hasil perhitungan persamaan regresi linear  $y = bx + a$ . Koefisien y pada persamaan tersebut adalah sebagai IC<sub>50</sub> sedangkan koefisien x pada persamaan tersebut adalah konsentrasi ekstrak yang akan dicari nilainya dimana nilai x yang didapatkan dari hasil perhitungan tersebut merupakan besarnya konsentrasi ekstrak etanol daun mengkudu yang mampu meredam aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun mengkudu replikasi 1 sebesar 93 µg/mL, replikasi 2 sebesar 87,6 µg/mL, replikasi 3 sebesar 70,5 µg/mL dengan nilai rata-rata IC<sub>50</sub> yang diperoleh yaitu 83,7 µg/mL dan nilai SD yang diperoleh yaitu 12,09.

Pada penelitian ini senyawa pembanding yang digunakan adalah kuersetin. Penggunaan pembanding kuersetin bertujuan untuk mengetahui kekuatan atau potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun mengkudu jika dibandingkan dengan kuersetin. Pada proses pengujian kuersetin terhadap DPPH menggunakan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan waktu inkubasi selama 50 menit, pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Hasil pengujian

kuersetin terhadap DPPH didapatkan nilai % inhibisi pada replikasi 1 konsentrasi 10 ppm sebesar 31,5%, 20 ppm sebesar 36,7%, 30 ppm sebesar 39,1%, 40 ppm sebesar 46,8%, dan 50 ppm sebesar 54,3%, untuk replikasi 2 konsentrasi 10 ppm sebesar 31,8%, 20 ppm sebesar 40%, 30 ppm sebesar 42,2%, 40 ppm sebesar 53,6%, dan 50 ppm sebesar 54,7%, untuk replikasi 3 konsentrasi 10 ppm sebesar 32,4%, 20 ppm sebesar 41,4%, 30 ppm sebesar 42,2%, 40 ppm sebesar 54,5%, dan 50 ppm sebesar 56,8%. Hasil perhitungan nilai IC<sub>50</sub> pada replikasi 1 sebesar 42,1 µg/mL, replikasi 2 sebesar 39,3 µg/mL, replikasi 3 sebesar 37,3 µg/mL dengan nilai rata-rata yang diperoleh yaitu 39,6 µg/mL dan nilai SD yang diperoleh yaitu 2,41.

Nilai IC<sub>50</sub> mencerminkan seberapa kuat kemampuan antioksidan suatu senyawa. Nilai IC<sub>50</sub> <50 ppm tergolong antioksidan sangat kuat, 50-100 ppm antioksidan kuat, 100-150 ppm antioksidan sedang, 150-200 ppm antioksidan lemah dan > 200 ppm termasuk antioksidan sangat lemah (Achyadi *et al.*, 2017). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa senyawa kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat sedangkan ekstrak etanol daun mengkudu termasuk antioksidan kuat, hal ini senada dengan penelitian yang telah dilakukan (Wigati & Pratoko, 2016) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh sebesar 49,09 µg/mL. Pada penelitian ini aktivitas antioksidan yang diperoleh yaitu golongan kuat sedangkan aktivitas antioksidan yang diperoleh pada penelitian sebelumnya termasuk kedalam kategori sangat kuat, hal ini dapat dikarenakan oleh pelarut yang digunakan berbeda, pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% dan penelitian sebelumnya menggunakan etanol 96%, sehingga hasil metabolit sekunder yang diperoleh berbeda. Menurut penelitian (Riwanti *et al.*, 2020)

menyebutkan bahwa proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% lebih banyak menyari metabolit sekunder dapat dilihat dari nilai rendemen yang dihasilkan dan pada proses penguapan ekstrak pada penelitian ini menggunakan waterbath dengan suhu 60 °C dan pada penelitian sebelumnya menggunakan rotary evaporator pada suhu dibawah 40 °C, perbedaan metode penguapan dan suhu sangat berpengaruh pada senyawa aktif yang diperoleh dari sampel. Penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan rusaknya senyawa-senyawa pada sampel. Dari uraian diatas bahwa jenis pelarut, metode dan suhu penguapan sangat berpengaruh terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan yang diperoleh.

## **BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1 Kesimpulan**

1. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu *Morinda citrifolia* L menggunakan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan dengan kategori kuat.
2. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu *Morinda citrifolia* L menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 83,7 µg/mL.

### **7.2 Saran**

#### **7.2.1 Saran untuk peneliti**

Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu dengan menggunakan metode pengujian antioksidan yang berbeda.

#### **7.2.2 Saran untuk peneliti lain**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu secara in-vivo.

#### **7.2.3 Saran untuk masyarakat**

Perlu dijadikan acuan dan bahan pembelajaran dalam pemanfaatan daun mengkudu sebagai antioksidan.

#### **7.2.4 Saran untuk ilmu pengetahuan**

Perlu dijadikan acuan dan bahan pembelajaran khususnya dalam bidang kefarmasian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu sebagai alternatif dalam pengembangan obat baru.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achyadi, N. S., Taufik, Y., & Darin Intan Khairunnisa. (2017). Pengaruh Konsentrasi Bubur Buah Dan Tepung Kedelai Terhadap Karakteristik Fit Bar Black Mulberry. *Pas. Food Technol J*, 4(3), 248–254.
- Ali, M., Kenganora, M., & Manjula, S. N. (2016). Health benefits of morinda citrifolia (Noni): A review. *Pharmacognosy Journal*, 8(4), 321–334. <https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.4>
- Anisa, Thahir, R., Magfirah, N., Baharullah, & Ernawati. (2021). Counseling and Health Checks as an Effort to Prevent Degenerative Diseases. *JCES (Journal of Character Education Society)*, 4(1), 221–228.
- Arif, Y., Jose, C., & Yuda, H. T. (2014). Total Fenolik, Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak n- Heksana, Diklorometan dan metanol Amaranthus spinosus L. EM5-Bawang Putih. *Jom Fmipa*, 1(2), 359–360.
- Basuki, G. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (Zysygium polyanthum) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)*. Universitas dr. Soebandi Jember.
- Cahyaningsih, E., Kusuma, P. E. S., & Santoso, P. (2019). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (Clitoria ternatea L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1), 51–57. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v5i1.851>
- Charlinia, W. (2016). Pengaruh Penambahan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Kafein Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*). In *Universitas Bengkulu*. Universitas Bengkulu.
- Dewi, R. Z. (2021). *Standarisasi Simplisia dan Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Uji Ativitas Antioksidan Dari Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. Bakti Tunas Husada.
- Djauhariya, E., Rahardjo, M., & Ma'mun, N. (2006). Karakterisasi Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu. *Buletin Plasma Nutfah*, 12(1), 1. <https://doi.org/10.21082/blpn.v12n1.2006.p1-8>
- Gupta, D. K., Pena, L. B., Romero-Puertas, M. C., Hernandez, A., Inouhe, M., & Sandalio, L. M. (2017). NADPH Oxidases Differentially Regulate ROS Metabolism And Nutrient Uptake Under Cadmium Toxicity. *Plant Cell and Environment*, 40(4), 509–526. <https://doi.org/10.1111/pce.12711>
- Haeria, Tahar, N., & Munadiah. (2018). Penentuan Kadar Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) Dengan Metode DPPH, CUPRAC Dan FRAP. *JF FIK UINAM*, 6(2), 88–97.

- Halimah, H., Margi Suci, D., & Wijayanti, I. (2019). Study of the Potential Use of Noni Leaves (*Morinda citrifolia L.*) as an Antibacterial Agent for *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(1), 58–64. <https://doi.org/10.18343/jipi.24.1.58>
- Harefa, D. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Madani : Indonesian Journal of Civil Society*, 2(2), 28–36. <https://doi.org/10.35970/madani.v2i2.233>
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86–93. <https://doi.org/10.17728/jatp.4201>
- Hidayah, N. (2016). Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds ( Tannin and Saponin ) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock. *WARTAZOA. Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 11(2), 89–98.
- Ikrima, K., Amalia, R., Mutakin, & Levita, J. (2020). Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alami Sebagai Fitoterapi. *Farmaka*, 17(3), 198–211.
- Ilyas, A. (2013). *Buku Kimia Organik Bahan Alam* (M. Bharuddin (ed.); 1st ed., p. 192). Alauddin University.
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1–9. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750>
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 60. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.27206>
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). Universitas Islam Indonesia.
- Krisnawan, A. H., Budiono, R., Sari, D. R., & Salim, W. (2017). Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus Lemon*) Lokal Dan Impor. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional*, 1(1), 30–34.
- Kurniawan, D. (2018). Aktivitas antimikroba dan antioksidan ekstrak tepung daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(2), 105. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2018.028.02.02>
- Lidyawati, Dita, S. F., & Agustiany, C. M. (2021). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L*). *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 2(1), 1–3.

<https://doi.org/10.37148/arteri.v1i1.1>

- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93–100. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Magfirah, L. (2018). *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Etanol dari Daun Mengkudu (Morinda citrifolia, L.) Terhadap Bakteri Mycobacterium tuberculosis* (Vol. 53, Issue 9). UIN Alauddin Makassar.
- Mahmudah, K. F. (2011). *Uji Aktivitas Antidiabetes Dengan Metode Penghambatan Enzim α-Glukosidase Dan Skrining Fitokimia Pada Beberapa Tanaman Indonesia*. Universitas Indonesia.
- Marjoni, R., & Ismail, T. (2016). *Dasar-dasar fitokimia untuk diploma III farmasi* (I. Taufik (ed.); 1st ed.). Trans Info Media.
- Morales-Gonzalez, J. (2013). *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases: a Role for Antioxidants*. Intech Publisher.
- Musfirah, Y., Tiga, B. Y., & Susiani, E. F. (2019). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Mengkudu ( Morinda Citrifolia, L) Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Bakteri Escherichia Coli. *Proceeding of Sari Mulia University Pharmacy National Seminars*, 95–97.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (Phaseolus vulgaris L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nugroho, W. F. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Arum Manis Daerah Kabupaten Banyuwangi Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*. Universitas dr. Soebandi Jember.
- Pambudi, D. B., Slamet, & Mardiana, S. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Adas ( Foeniculum vulgare Mill .) Dengan Metode DPPH. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 1–10.
- Panda, S. K. (2012). Assay Guided Comparison for Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Activities with Special Reference to Medicinal Plants. *InTech*, 381–400. <https://doi.org/10.5772/50782>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>

- Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyanto, E. (2018). Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun, Daging, Buah, Dan Biji Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Urecol*, 454–462.
- Rahmawati, R., Muflihunna, A., & Sarif, L. M. (2016). Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 97–101. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.177>
- Ramayani, S. L., Permatasari, E. A., Novitasari, I., & Maryana, M. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenolik, Kadar Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 18(1), 40–46. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v18i01.4898>
- Rambe, R., Gultom, E. D., Ginting, O. S. B., & Diana, S. (2021). Uji Efektivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Mencit Jantan Dengan Metode Transit Intestinal. *Forte Journal*, 1(1), 01–11. <https://doi.org/10.51771/fj.v1i1.34>
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Sadeli, R. A. (2016). *Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Eksrak Bromelain Buah Nanas (Ananas comosus (L.) Merr.)*. Universitas Sanata Dharma.
- Santoso, U., Utari, M., & Marpaung, M. P. (2020). aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak batang akar kuning (Fibraurea chloroleuca Miers) terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans. *Jurnal Kesehatan Bakti : Jurnal Ilmu Keperawatan Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 20(2), 194–208. [https://www.ejurnal.stikes-bth.ac.id/index.php/P3M\\_JKBTH/article/view/611](https://www.ejurnal.stikes-bth.ac.id/index.php/P3M_JKBTH/article/view/611)
- Saptari, T., Triastinurmiatiningsih, S, B. L., & Sayyidah, I. N. (2019). Kadar Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut Coklat (Padina australis). *Fitofarmaka*, 9(1), 1–8.
- Sari, E. K., & Hidayati, S. (2021). In Vitro Antioxidant Activity And GC-MS Analysis of Ethanolic Mangkokan Leaves Extract (Polyscias balfouriana (Sander ex Andre) L.H.Bailey). *Jurnal Katalisator*, 6(1), 117–125. <https://doi.org/http://doi.org/10.22216/jk.v5i2.5717>
- Sari, M., Ulfa, R. N., Marpaung, M. P., & Purnama. (2021). Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (Coccinia grandis L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(1), 30–41. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2021.v7.i1.15437>

- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik* (D. Fahrezionaldo & S. Y (eds.); 1st ed.). Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI).
- Sinaga, F. A. (2016). Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*, 9(2), 176–189.
- Suarsa, I. W. (2015). Spektroskopi [Universitas Udayana]. In *Grundlagen der Astrophysik*. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-34555-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-662-34555-9_3)
- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. . H. F. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes aegypti* (N. R. Hariyati (ed.); 1st ed.). Graniti. [www.penerbitgraniti.com](http://www.penerbitgraniti.com)
- Sugiono. (2016). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. CV Alfabeta.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik* (Aura (ed.); 1st ed.). CV. Anugrah Utama Raharja. [www.aura-publishing.com](http://www.aura-publishing.com)
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Suryadinata, R. V. (2018). Effect of free radicals on inflammatory process in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Amerta Nutrition*, 2(4), 317–324.
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M., & Jambe, A. A. G. N. A. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Program Studi Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 345–362.
- Sutrisna. (2013). Penyakit Degeneratif. *Universitas Muhammadiyah Surakarta*, 1–8.
- Tarfiani, I. N. (2018). *Uji Aktivitas Fraksi n-Heksan Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Dengan Pembawa Vaselin Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus*. Universitas Sumatera Utara.
- Thahir, Z., & Azizah, N. A. (2019). Uji Efek Antidiare Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kesehatan Yamasi, July*, 1–7.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung ( *Mimusops elengi L* ). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan,”* 1–7.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis

- Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>
- Wahyuni, I. R. (2015). *Validasi Metode Analisis Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Etanol 70% Umbi Talas Ungu (Colocasia esculenta L. Schott) Dengan Metode DPPH, CUPRAC Dan FRAP Secara Spektrofotometri UV-Vis.* Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Wiendarlina, I. Y., & Sukaesih, R. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) Dalam Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih Dan Korelasinya Dengan Kadar Fenol Dan Vitamin C. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(1), 315–324. <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i1.464>
- Wigati, D., & Pratoko, D. K. (2016). Total Flavonoid dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Ekstrak Etanolik Daun Dan Buah Mengkudu. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 5(1, Oktober), 7–11. <https://doi.org/10.37013/jf.v5i1.36>
- Wijaya, D. P., Paendong, J. E., & Abidjulu, J. (2014). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynum capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal MIPA*, 3(1), 11–15. <https://doi.org/10.35799/jm.3.1.2014.3899>
- Yahya, M. A., Anjani, H. S., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 3(1), 46–54. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v3i1.44>
- Yuliastuti, F., Lutfiyati, H., Dianita, P. S., Hapsari, W. S., & Putri, M. (2017). Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Angka Lempeng Total (ALT) Ekstrak Daun Landep (*Barleria prioritis* L.). *University Research Colloquium*, 394.
- Yuslanti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan* (C. M. Sartono & H. Rahmadhani (eds.); 1st ed.). CV Budi Utama.
- Zahrina, Hasanuddin, & Wardiah. (2017). Studi Morfologi Serbuk Sari Enam Anggota Familia Rubiaceae. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 2(1), 114–123.

## **DAFTAR LAMPIRAN**

**Lampiran 1.** Surat Persetujuan Judul**UNIVERSITAS dr. SOEBANDI**

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS

Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483536,

E-mail : info@fikdrsoebandi.ac.id Website : http://www.fikdrsoebandi.ac.id

**FORM USULAN JUDUL PENELITIAN**

Nama Mahasiswa : Qurrotul Aini

NIM : 18040084

Usulan Judul  
Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu

(Morinda citrifolia L.) dengan Metode DPPH ( 2,2-difenil-1-pikrilhidrazen )

Pembimbing I : apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

Pembimbing II : Arief Judi Susilo, S. Kep., M.Kes

Menyatakan bahwa Usulan Judul Penelitian (Skripsi) mahasiswa tersebut di atas telah mendapat rekomendasi dari kedua pembimbing untuk dilanjutkan menjadi proposal penelitian.

Pembimbing I

apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

Tanggal

16 / 21  
11

Pembimbing II

Arief Judi Susilo, S. Kep., M.Kes

Tanggal

23 / 21  
11Mengetahui,  
Komisi Bimbingan

apt. Dina Trianggaluh, M. Farm

Tanggal

08 / 21  
12

**Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman**

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
Revisi : 0



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

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**

No: 062/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 584/FIKUS.UUDS/U/II/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Qurrotul Aini  
NISI : 18040084  
Jal. Masuk PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom: Plantae; Devision: Spermatophyta; Sub Devision: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Morinda; Spesies: Morinda citrifolia, L.*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



**Lampiran 3.** Proses Pembuatan Simplisia

---

Pemetikan daun



---

Pencucian daun



---

Perajangan daun



---

Pengeringan daun



Penghalusan daun

---



**Lampiran 4.** Proses Pembuatan Ekstrak

---

Perendaman serbuk simplisia



---

Penguapan ekstrak



---

Ekstrak kental daun mengkudu



---

*Waterbath*



**Lampiran 5.** Perhitungan Rendemen

- Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Mengkudu

**Diketahui:**

- Berat serbuk simplisia : 200 gram
- Berat ekstrak kental : 40,99 gram

**Rendemen ekstrak:**

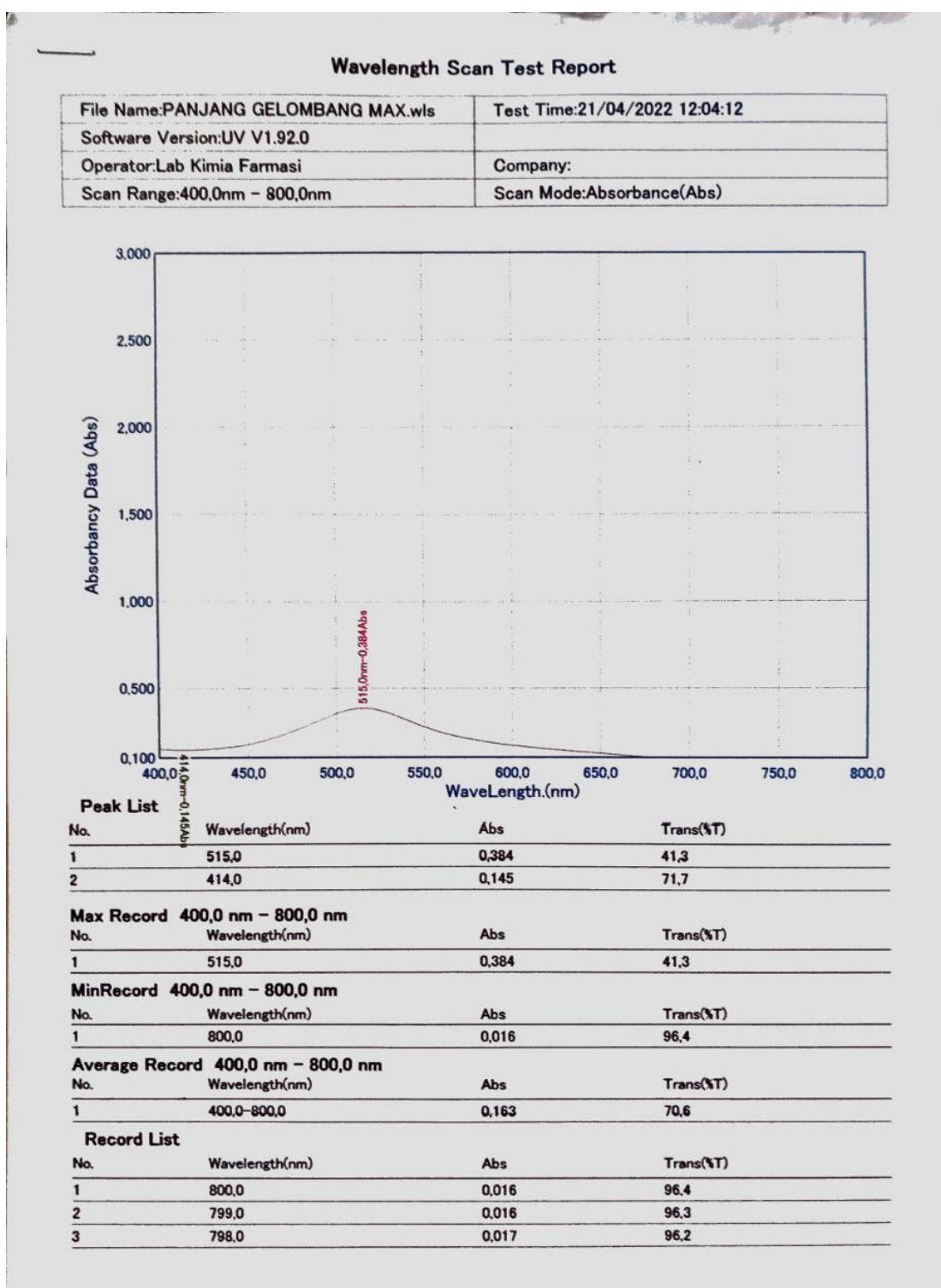
$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Berat Ekstrak Kental}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{40,99 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 20,49\%\end{aligned}$$

### Lampiran 6. Skrining Fitokimia



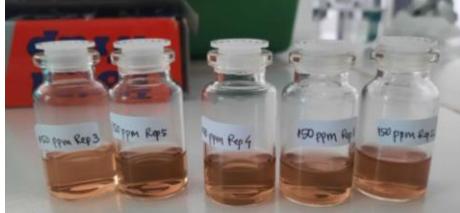
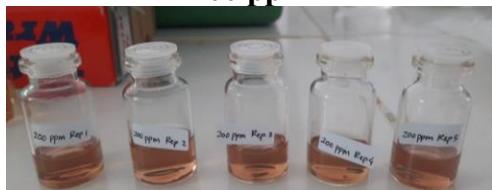
Pengujian	Gambar	Hasil
Flavonoid		Terjadi perubahan warna larutan menjadi kuning atau jingga yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa flavonoid
Fenolik		Larutan berubah menjadi hitam pekat yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa fenolik
Alkaloid		Larutan berubah menjadi keruh dan terdapat endapan yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa alkaloid
Tanin		Terjadi perubahan warna larutan menjadi hijau kehitaman yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa tanin
Saponin		Terbentuknya busa stabil selama ± 7 menit yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa saponin

### Lampiran 7. Optimasi Panjang Gelombang



**Lampiran 8.** Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antioksidan

<b>Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Mengkudu</b>	
	
<b>Pembuatan Larutan Induk dan Pengenceran Senyawa Pembanding Kuersetin</b>	
	
<b>Pengukuran Aktivitas Antioksidan Daun Mengkudu</b>	<b>Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin</b>
<b>50 ppm</b>	<b>10 ppm</b>
	
<b>100 ppm</b>	<b>20 ppm</b>
	

<b>150 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
	
<b>200 ppm</b>	<b>40 ppm</b>
	
<b>250 ppm</b>	<b>50 ppm</b>
	

#### Alat Yang Digunakan Untuk Pengujian Aktivitas Antioksidan



**Lampiran 9.** Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan

**1. Pembuatan Larutan DPPH**

Diketahui :

- Serbuk DPPH = 5 mg
- Volume pelarut = 100 mL

Konsentrasi larutan DPPH

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000 \\ &= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 50 \text{ ppm}\end{aligned}$$

**2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Mengkudu**

**a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Daun Mengkudu**

Diketahui:

- Ekstrak kental = 10 mg
- Volume pelarut = 10 mL
- Konsentrasi larutan induk =  $\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000$   
 $= 1000 \text{ ppm}$

**b. Perhitungan Pengenceran 50, 100, 150, 200, 250 ppm**

Rumus:  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

- 50 ppm =  $\frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$   
 $= 0,5 \text{ mL}$
- 100 ppm =  $\frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$   
 $= 1 \text{ mL}$

- 150 ppm  $= \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$

$$= 1,5 \text{ mL}$$

- 200 ppm  $= \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$

$$= 2 \text{ mL}$$

- 250 ppm  $= \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

### 3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

#### a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Daun Mengkudu

Diketahui:

- Ekstrak kental  $= 2 \text{ mg}$

- Volume pelarut  $= 10 \text{ mL}$

- Konsentrasi larutan induk  $= \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000$

$$= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000$$

$$= 200 \text{ ppm}$$

#### b. Perhitungan Pengenceran 10, 20, 30, 40, 50 ppm

Rumus:  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

- 10 ppm  $= \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

- 20 ppm  $= \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 1 \text{ mL}$$

- 30 ppm  $= \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$

$$= 1,5 \text{ mL}$$

$$\bullet \quad 40 \text{ ppm} \quad = \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$$

$$= 2 \text{ mL}$$

$$\bullet \quad 50 \text{ ppm} \quad = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

### c. Optimasi Waktu Inkubasi

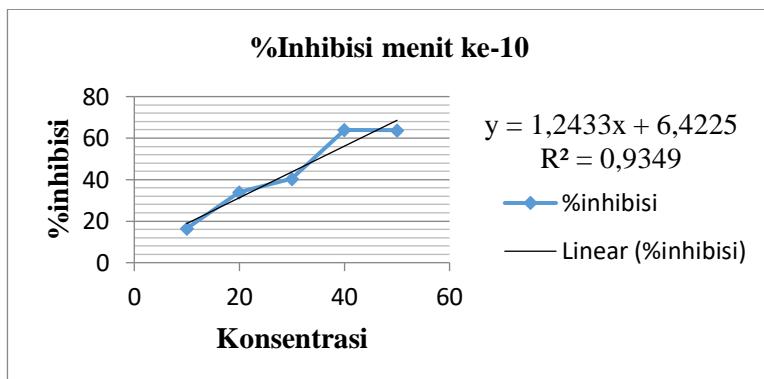
Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
Blangko	10	10	0,629
		20	0,525
		30	0,415
		40	0,375
		50	0,227
	20	10	0,228
		20	0,524
		30	0,386
		40	0,385
		50	0,241
Kuersetin	30	10	0,503
		20	0,366
		30	0,314
		40	0,299
		50	0,283
	40	10	0,525
		20	0,463
		30	0,377
		40	0,430
		50	0,443
	50	10	0,490
		20	0,328
		30	0,254
		40	0,221
		50	0,357
	60	10	0,522
		20	0,472
		30	0,375
		40	0,318
		50	0,290

**Tabel Hasil Persen Inhibisi dan IC<sub>50</sub> Kuersetin**

<b>Menit</b>	<b>Konsentrasi</b>	<b>% Inhibisi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
10	10	16,534	<b>35,050</b>
	20	34,022	
	30	40,381	
	40	63,911	
	50	63,752	
20	10	16,693	<b>41,247</b>
	20	38,633	
	30	38,792	
	40	41,812	
	50	61,685	
30	10	20,032	<b>37,595</b>
	20	41,812	
	30	50,079	
	40	52,464	
	50	55,008	
40	10	16,534	<b>97,564</b>
	20	26,391	
	30	40,063	
	40	31,637	
	50	29,571	
50	10	22,098	<b>25,992</b>
	20	47,854	
	30	59,618	
	40	64,865	
	50	43,243	
60	10	17,011	<b>43,091</b>
	20	24,960	
	30	40,381	
	40	49,443	
	50	53,895	

### Persamaan Regresi dan nilai IC<sub>50</sub>

#### Menit ke-10

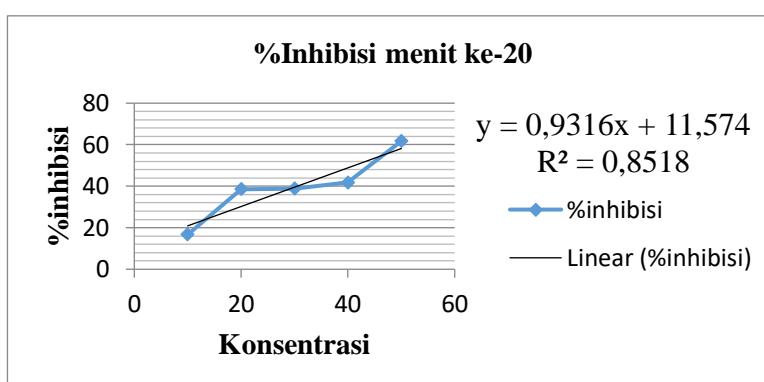


$$y = bx + a$$

$$y = 1,2433 x + 6,4225$$

$$\frac{50-6,4225}{1,2433} = 35,050 \mu\text{g/mL}$$

#### Menit ke-20

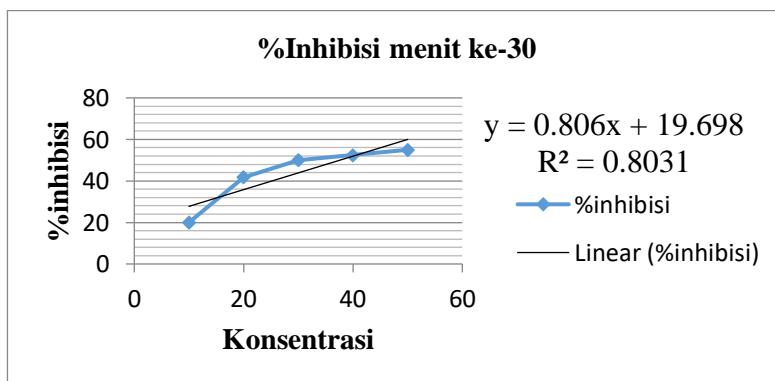


$$y = bx + a$$

$$y = 0,9316 x + 11,574$$

$$\frac{50-11,574}{0,9316} = 41,247 \mu\text{g/mL}$$

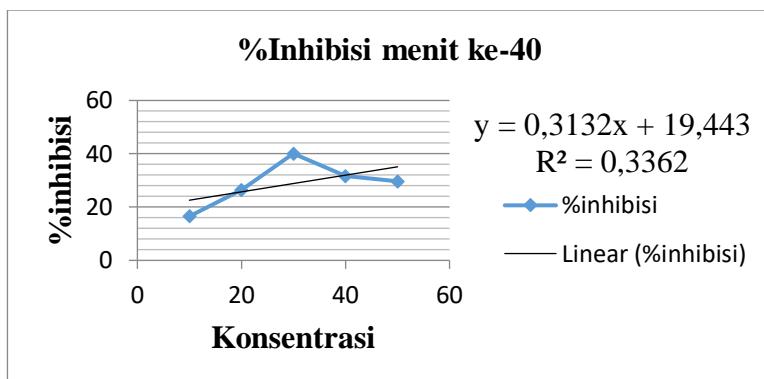
#### Menit ke-30



$$y = bx + a$$

$$y = 0,806x + 19,698$$

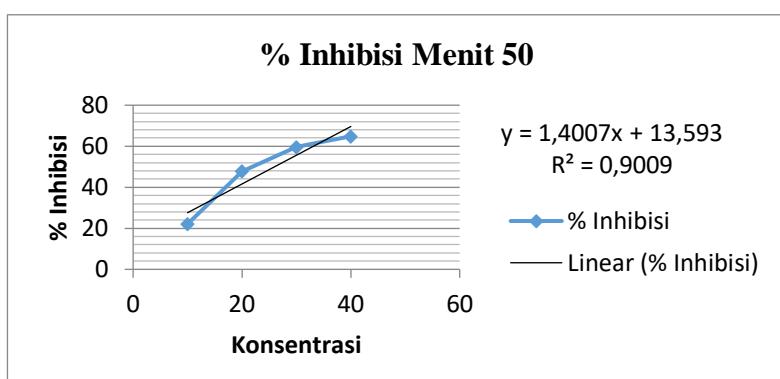
$$\frac{50-19,698}{0,806} = 37,595 \mu\text{g/mL}$$

**Menit ke-40**

$$y = bx + a$$

$$y = 0,3132x + 19,443$$

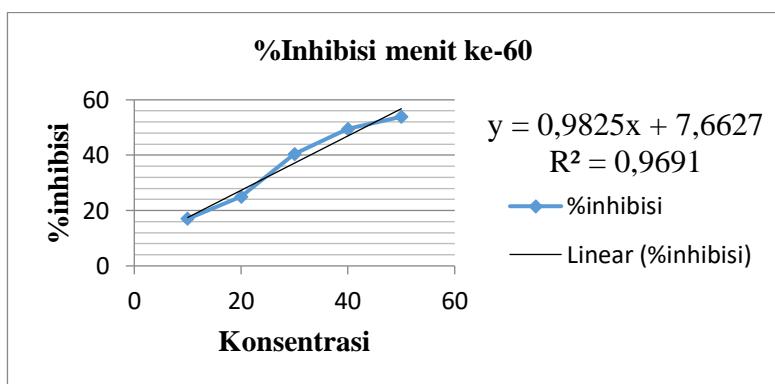
$$\frac{50-19,443}{0,3132} = \mathbf{97,564 \mu g/mL}$$

**Menit ke 50**

$$y = bx + a$$

$$y = 1,4007x + 13,593$$

$$\frac{50-13,593}{1,4007} = \mathbf{25,992 \mu g/mL}$$

**Menit ke-60**

$$y = bx + a$$

$$y = 0,9825x + 7,6627$$

$$\frac{50-7,6627}{0,9825} = \mathbf{43,091 \mu g/mL}$$

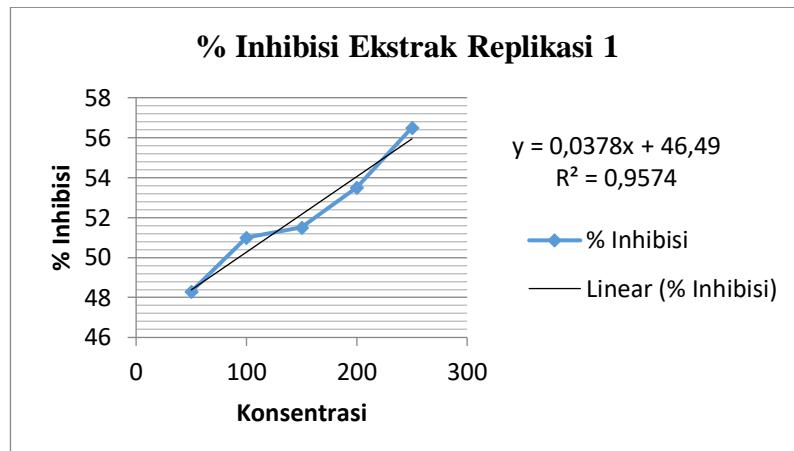
**d. Pengukuran Aktivitas Entioksidan Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Pembanding Kuersetin**

- Pengujian ekstrak etanol daun mengkudu

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Blangko		0,635		
1	50	0,328	48,3	<b>93</b>
	100	0,311	51	
	150	0,308	51,5	
	200	0,295	53,5	
	250	0,276	56,5	
2	50	0,326	48,6	<b>87,6</b>
	100	0,310	51,2	
	150	0,308	51,5	
	200	0,295	53,5	
	250	0,276	56,5	
3	50	0,326	48,6	<b>70,5</b>
	100	0,309	51,3	
	150	0,307	51,6	
	200	0,294	53,7	
	250	0,264	58,4	

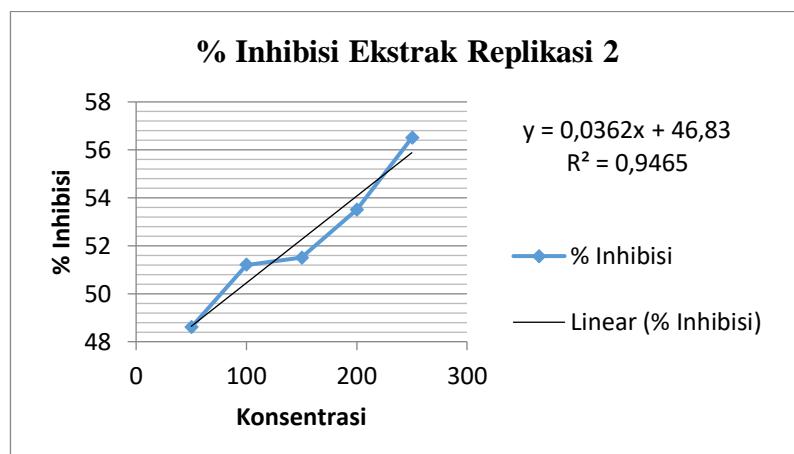
### Persamaan Regresi Linear dan Nilai IC<sub>50</sub>

#### Replikasi 1



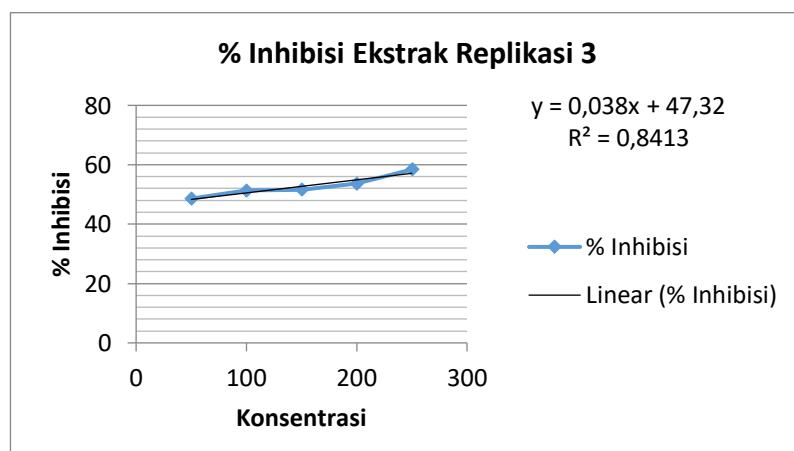
$$\begin{aligned}
 y &= bx + a \\
 50 &= 0,0378x + 46,49 \\
 \frac{50-46,49}{0,0378} &= 93 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

#### Replikasi 2



$$\begin{aligned}
 y &= bx + a \\
 50 &= 0,0362x + 46,83 \\
 \frac{50-46,83}{0,0362} &= 87,6 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

#### Replikasi 3



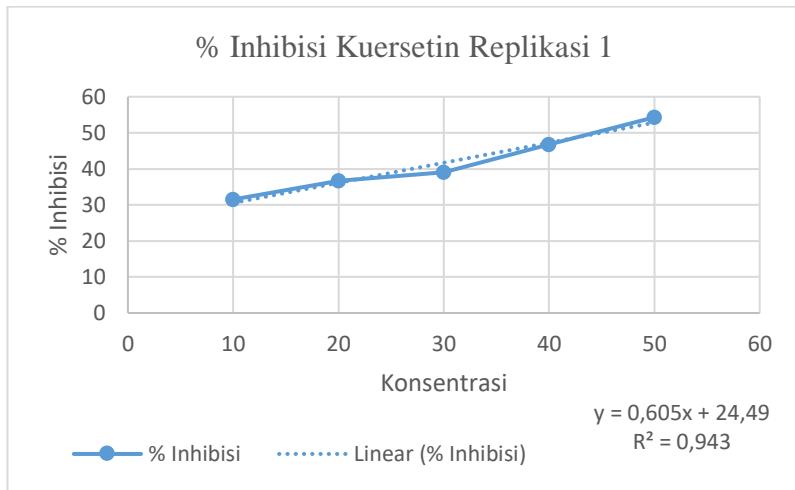
$$\begin{aligned}
 y &= bx + a \\
 50 &= 0,038x + 47,32 \\
 \frac{50-47,32}{0,038} &= 70,5 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

- Pengujian Pembanding Kuersetin

	<b>Replikasi</b>	<b>Konsentrasi</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>% Inhibisi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
Blangko			0,517		
Blangko	1	10	0,354	31,5	<b>42,1</b>
		20	0,327	36,7	
		30	0,315	39,1	
		40	0,275	46,8	
		50	0,236	54,3	
	2	10	0,353	31,8	<b>39,3</b>
		20	0,310	40	
		30	0,299	42,2	
		40	0,240	53,6	
		50	0,234	54,7	
	3	10	0,349	32,4	<b>37,3</b>
		20	0,303	41,4	
		30	0,299	42,2	
		40	0,235	54,5	
		50	0,223	56,8	

### Persamaan Regresi dan Nilai IC<sub>50</sub>

#### Replikasi 1

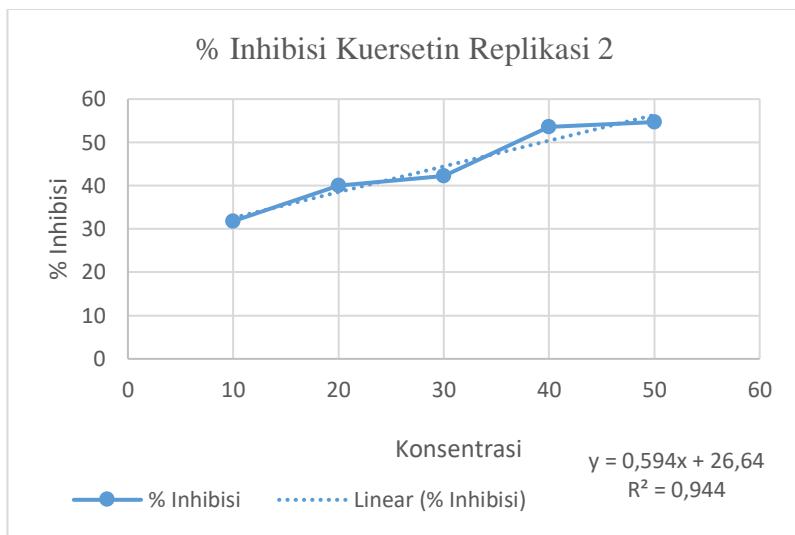


$$y = bx + a$$

$$y = 0,605x + 24,49$$

$$\frac{50 - 24,49}{0,605} = 42,1 \mu\text{g/mL}$$

#### Replikasi 2

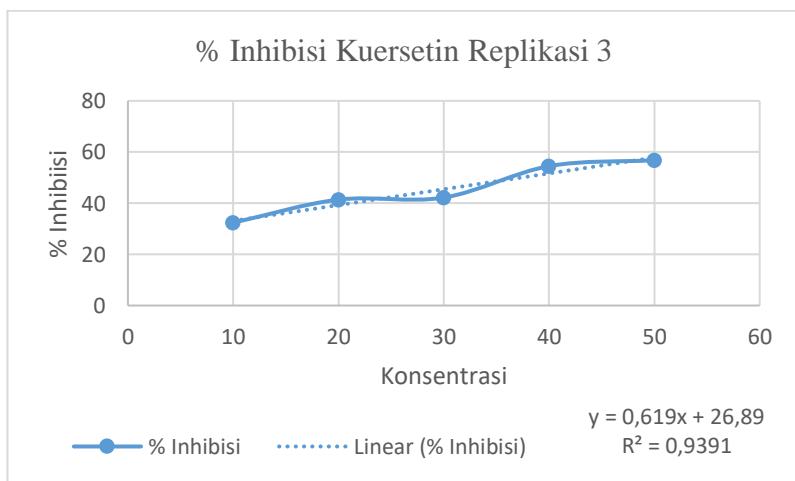


$$y = bx + a$$

$$y = 0,594x + 26,64$$

$$\frac{50 - 26,64}{0,594} = 39,3 \mu\text{g/mL}$$

#### Replikasi 3



$$y = bx + a$$

$$y = 0,619x + 26,89$$

$$\frac{50 - 26,89}{0,619} = 37,3 \mu\text{g/mL}$$

- Perbandingan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Daun Mengkudu dan Kuersetin

Rep	IC <sub>50</sub> Ekstrak ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kategori	Rep	IC <sub>50</sub> Kuersetin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kategori
1	93	Kuat	1	42,1	Sangat Kuat
2	87,6	Kuat	2	39,3	Sangat Kuat
3	70,5	Kuat	3	37,3	Sangat Kuat

**Lampiran 10.** Photometry Test Report Ekstrak Etanol Daun Mengkudu dan Kuersetin

**1. Ekstrak Etanol Daun Mengkudu**

- Blangko

**Photometry Test Report**

File name:Blangko.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,635	23,2	17/06/2022 9:37:58	Blangko

- 50 ppm

**Photometry Test Report**

File name:50 ppm Ai.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,345	45,2	17/06/2022 10:26:42	50 REP 1
2	515,0	0,328	47,0	17/06/2022 10:28:17	50 REP 2
3	515,0	0,311	48,9	17/06/2022 10:28:39	50 REP 3
4	515,0	0,326	47,2	17/06/2022 10:28:58	50 REP 4
5	515,0	0,326	47,2	17/06/2022 10:30:17	50 REP 5

- 100 ppm

**Photometry Test Report**

File name:100 ppm Ai.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,311	48,9	17/06/2022 10:41:27	100 REP 1
2	515,0	0,310	49,0	17/06/2022 10:42:05	100 REP 2
3	515,0	0,309	49,0	17/06/2022 10:43:04	100 REP 3
4	515,0	0,316	48,3	17/06/2022 10:43:36	100 REP 4
5	515,0	0,321	47,8	17/06/2022 10:44:11	100 REP 5

- 150 ppm

**Photometry Test Report**

File name:150 ppm Ai.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,307	49,3	17/06/2022 10:52:11	150 REP 1
2	515,0	0,301	50,0	17/06/2022 10:54:03	150 REP 2
3	515,0	0,308	49,2	17/06/2022 10:54:26	150 REP 3
4	515,0	0,305	49,6	17/06/2022 10:55:35	150 REP 4
5	515,0	0,308	49,3	17/06/2022 10:56:04	150 REP 5

- **200 ppm**

**Photometry Test Report**

File name:200 ppm Ai.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,295	50,7	17/06/2022 11:16:23	200 REP 1
2	515,0	0,294	50,8	17/06/2022 11:17:32	200 REP 2
3	515,0	0,295	50,7	17/06/2022 11:18:02	200 REP 3
4	515,0	0,293	51,0	17/06/2022 11:18:32	200 REP 4
5	515,0	0,294	50,8	17/06/2022 11:20:25	200 REP 5

- **250 ppm**

**Photometry Test Report**

File name:250 ppm Ai.bas	Test time:
Software Version:UVV1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,277	52,9	17/06/2022 12:09:41	250 REP 1
2	515,0	0,276	53,0	17/06/2022 12:10:44	250 REP 2
3	515,0	0,276	53,0	17/06/2022 12:11:32	250 REP 3
4	515,0	0,264	54,4	17/06/2022 12:12:40	250 REP 4
5	515,0	0,246	56,8	17/06/2022 12:13:00	250 REP 5

## 2. Pembanding Kuersetin

- **Blangko**

**Photometry Test Report**

File name:BLANGKO KUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,517	30,4	13/06/2022 8:38:03	BLANGKO KUERSETIN

- **10 ppm**

**Photometry Test Report**

File name:10 PPMKUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,354	44,5	13/06/2022 9:22:08	10PPM REP 1 KUERSETIN
2	515,0	0,353	44,4	13/06/2022 9:22:50	10PPM REP 2 KUERSETIN
3	515,0	0,351	44,2	13/06/2022 9:23:16	10PPM REP 3 KUERSETIN
4	515,0	0,354	44,5	13/06/2022 9:23:40	10PPM REP 4 KUERSETIN
5	515,0	0,349	44,8	13/06/2022 9:24:05	10PPM REP 5 KUERSETIN

- 20 ppm

**Photometry Test Report**

File name: 20 PPM KUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,337	46,0	13/06/2022 9:39:25	20PPM REP 1 KUERSETIN
2	515,0	0,327	47,1	13/06/2022 9:39:45	20PPM REP 2 KUERSETIN
3	515,0	0,310	46,6	13/06/2022 9:40:09	20PPM REP 3 KUERSETIN
4	515,0	0,303	49,8	13/06/2022 9:40:29	20PPM REP 4 KUERSETIN
5	515,0	0,303	49,8	13/06/2022 9:40:55	20PPM REP 5 KUERSETIN

- 30 ppm

**Photometry Test Report**

File name: 30 PPM KUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,315	48,4	13/06/2022 10:06:59	30PPM REP 1 KUERSETIN
2	515,0	0,299	50,2	13/06/2022 10:02:32	30PPM REP 2 KUERSETIN
3	515,0	0,270	53,9	13/06/2022 10:02:52	30PPM REP 3 KUERSETIN
4	515,0	0,289	51,4	13/06/2022 10:03:12	30PPM REP 4 KUERSETIN
5	515,0	0,299	50,2	13/06/2022 10:03:46	30PPM REP 5 KUERSETIN

- 40 ppm

**Photometry Test Report**

File name: 40 PPM KUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,275	52,8	13/06/2022 10:34:66	40PPM REP 1 KUERSETIN
2	515,0	0,235	58,3	13/06/2022 10:35:12	40PPM REP 2 KUERSETIN
3	515,0	0,240	57,6	13/06/2022 10:35:50	40PPM REP 3 KUERSETIN
4	515,0	0,235	58,3	13/06/2022 10:36:12	40PPM REP 4 KUERSETIN
5	515,0	0,266	54,2	13/06/2022 10:36:20	40PPM REP 5 KUERSETIN

- 50 ppm

**Photometry Test Report**

File name: 50 PPM KUERSETIN.bas	Test time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test time	Sampel Name
1	515,0	0,236	58,0	13/06/2022 10:56:35	50PPM REP 1 KUERSETIN
2	515,0	0,234	58,2	13/06/2022 10:56:57	50PPM REP 2 KUERSETIN
3	515,0	0,235	58,3	13/06/2022 10:57:17	50PPM REP 3 KUERSETIN
4	515,0	0,236	58,0	13/06/2022 10:57:39	50PPM REP 4 KUERSETIN
5	515,0	0,223	59,8	13/06/2022 10:57:59	50PPM REP 5 KUERSETIN

## **Lampiran 11. Jadwal Kegiatan Penelitian**

No.	Kegiatan	Mei				Juni				Juli				Agustus			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Tahap Persiapan																
	A. Pengumpulan Bahan Baku																
	B. Pembuatan Simplisia																
2	Tahap Pelaksanaan																
	A. Ekstraksi																
	B. Skrining Fitokimia																
	C. Optimasi Panjang Gelombang dan Waktu Inkubasi																
	D. Uji Aktivitas Antioksidan																
3	Tahap Penyusunan Laporan																
	A. Penyusunan Laporan																
	B. Seminar Hasil																

## CURRICULUM VITAE



### A. Biodata Peneliti

Nama : Qurrotul Aini  
NIM : 18040084  
Tempat, tanggal lahir : Bangkalan, 14 September 1999  
Alamat : Dsn. Kaoman Tengket, Kecamatan Arosbaya,  
Kabupaten Bangkalan  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Nomor Telepon : 083814564649  
Email : qurrotulaini100@gmail.com  
Status : Mahasiswa

### B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. TK Muslimat NU Arosbaya
2. SD Negeri 2 Arosbaya
3. SMP Negeri 1 Arosbaya
4. SMK Kesehatan Yannas Husada Bangkalan
5. S1 Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember