

**UJI ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN AFRIKA (*Vernonia
amygdalina* Del.) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl
Hidrazil)**

SKRIPSI



Oleh :

Dhea Melani

NIM 18040025

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2022

UJI ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)

SKRIPSI

**Untuk memenuhi persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**



Oleh :

Dhea Melani

NIM 18040025

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2022

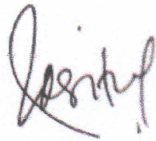
LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi

Universitas dr. Soebandi

Jember, 16 Agustus 2022

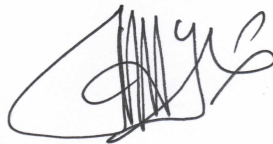
Pembimbing Utama,



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm

NIDN. 0001028102

Pembimbing Anggota,



Apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm

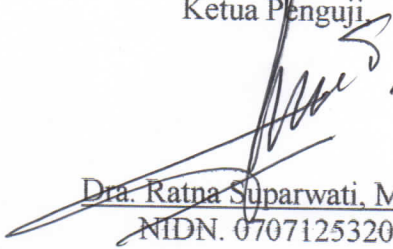
NIDN. 0703068903

HALAMAN PENGESAHAN

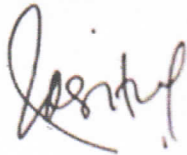
Skripsi yang berjudul “ *Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Senin
Tanggal : 22 Agustus 2022
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,

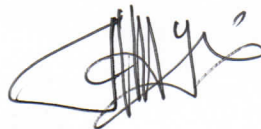

Dra. Ratna Suparwati, M. Kes
NIDN. 07071253201

Penguji II,



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm
NIDN. 0001028102

Penguji III,



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm
NIDN. 0703068903

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi



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

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dhea Melani
NIM : 18040025
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, 18 September 2022

Yang menyatakan,



(Dhea Melani)

SKRIPSI

UJI ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) DENGAN METODE DPPH (1,1- *Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*)

Oleh:

Dhea melani
NIM. 18040025

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm

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

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 yang telah memberikan doa, dukungan dan semangat demi kelancaran dan kesuksesan saya;
4. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
5. Para guru saya, dari TK sampai SMA yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
6. Dwi, Aden, Naufal, dan Fanisa yang telah membantu saya pada proses penelitian;
7. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember;
8. Almamater Universitas dr. Soebandi Jember;

MOTTO

“Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya menemukanmu.”

Abi bin Abi Thalib

“Rahasia untuk maju adalah memulai.”

Mark Twain

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.”

QS. Al Insyirah 6

ABSTRAK

Melani, Dhea* Puspaningtyas, Ayik Rosita**Setyaningrum, Lindawati***.2022.Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil). Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) berasal dari famili *Asteraceae* merupakan salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai obat tradisional seperti penurun panas, pengobatan luka dan penyakit degeneratif. Daun Afrika memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil).

Metode: Serbuk simplisia daun Afrika diekstraksi menggunakan metode maserasi dan fraksinasi menggunakan pelarut metanol dan Etil Asetat lalu dilakukan skrining fitokimia. Pengujian antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil) dengan pembanding kuersetin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm.

Hasil Penelitian: Hasil skrining fitokimia pada fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menunjukkan adanya senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin. Hasil dari pengujian aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menunjukkan nilai IC₅₀ rata-rata 19,821 µg/mL dan pembanding kuersetin dengan nilai rata-rata 4,224 µg/mL.

Kesimpulan: Fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin dan terdapat aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.), DPPH, IC₅₀

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Melani, Dhea* Puspaningtyas, Ayik Rosita**Setyaningrum, Lindawati***.2022.
Antioxidant Test of African Leaves Ethyl Acetate Fraction (*Vernonia amygdalina* Del.) Using DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi.

Background: African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) from the *Asteraceae* family is one of the plants commonly used as traditional medicine such as fever reducers, wound treatment and degenerative diseases. African leaves contain secondary metabolites that have potential as antioxidants. This study aimed to determine the antioxidant activity of the Ethyl Acetate fraction of African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil) method.

Methods: African leaves simplicia powder was extracted using maceration and fractionation methods using methanol liquid and Ethyl Acetate then carried out phytochemical screening. Antioxidant testing was carried out using the DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil) method with quercetin as a comparison which was measured using a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 515 nm.

Results and Analysis: The results of phytochemical screening on the Ethyl Acetate fraction of African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) showed the presence of flavonoid, phenolic, alkaloid, and saponin compounds. The results of antioxidant activity of the Ethyl Acetate fraction of African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) test was obtained an average IC₅₀ value of 19,821 µg/mL and a comparison of quercetin with an average value of 4,224 µg/mL.

Conclusion: The Ethyl Acetate Fraction of African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) contains secondary metabolites of flavonoids, phenolics, alkaloids, and saponins and has very strong antioxidant activity.

Keywords: African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.), DPPH, IC₅₀

*Author

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)”.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S. Kep., Ns., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember;
2. Hella Meldy Tursina, S. Kep., Ns., M. Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember ;
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S. Farm.,M. Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember serta selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam proses penulisan skripsi;
5. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam proses penulisan skripsi;
6. Dra. Ratna Suparwati, M.Kes selaku ketua dosen penguji yang telah bersedia menjadidosen penguji dan memberikan saran serta kritik yang membangun bagi skripsi penulis;
7. Para dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa;

8. Pak Edi, bu Nanda, dan bu Nabila selaku laboran laboratorium Universitas dr. Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan proses penelitian;

Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan Skripsi ini.

Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 16 Agustus 2022

Penulis

Dhea Melani
NIM. 18040025

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
PERSEMBAHAN.....	vi
MOTTO.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
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.....	6
1.4.4 Manfaat bagi institusi pendidikan	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tanaman Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.).....	8
2.1.1 Klasifikasi.....	8
2.1.2 Nama lain tanaman Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.).....	9

2.1.3	Morfologi tanaman Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.).....	9
2.1.4	Kandungan kimia tanaman Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	9
2.1.5	Khasiat tanaman Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.).....	10
2.2	Tinjauan Maserasi dan Fraksinasi.....	11
2.2.1	Maserasi.....	11
2.2.2	Fraksinasi.....	12
2.2.3	Pelarut	12
2.3	Skrining Fitokimia	13
2.4	Radikal bebas	14
2.4.1	Definisi	14
2.4.2	Sumber	15
2.4.3	Mekanisme	15
2.4.4	Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas	16
2.5	Antioksidan	16
2.5.1	Definisi.....	16
2.5.2	Macam-macam.....	17
2.6	Uji Aktivitas Antioksidan	20
2.6.1	DPPH.....	21
2.7	Instrumen Spektrofotometer UV-VIS	22
2.7.1	Definisi	22
2.7.2	Bagian-bagian	23
2.7.3	Prinsip Kerja	24
2.7.4	Syarat Pengukuran	25
2.7.5	Hasil	25
2.7.6	Pengujian Secara In Vitro.....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP		27
3.1	Kerangka Konsep	27
3.2	Hipotesis.....	28
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN		29
4.1	Jenis Penelitian	29
4.2	Determinasi	29
4.3	Populasi.....	29
4.4	Sampel Penelitian	30
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	30

4.5.1	Lokasi	30
4.5.2	Waktu Penelitian	30
4.6	Variabel Penelitian	30
4.6.1	Variabel bebas	30
4.6.2	Variabel terikat	31
4.7	Definisi Operasional	31
4.8	Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data	33
4.8.1	Alat dan Bahan	33
4.8.2	Teknik Pengumpulan Data	33
4.8.3	Perhitungan IC ₅₀	39
4.8.4	Pengolahan Data	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN		41
5.1	Determinasi Tanaman	41
5.2	Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	41
5.3	Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) 42	
5.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan	43
5.4.1	Penentuan Panjang Gelombang	43
5.4.2	Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH	44
5.4.3	Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) dan Kuersetin	44
5.4.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) dan Kuersetin	46
BAB 6 PEMBAHASAN		51
6.1	Determinasi Tanaman	52
6.2	Pembuatan Simplisia	52
6.2.1	Pengambilan Sampel	52
6.2.2	Pengolahan Sampel	52
6.3	Proses Ekstraksi Maserasi dan Fraksinasi	53
6.3.1	Ekstraksi Maserasi	53
6.3.2	Ekstraksi Fraksinasi	54
6.4	Identifikasi Kualitatif Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) 55	
6.4.1	Flavonoid	56
6.4.2	Fenolik	57

6.4.3	Alkaloid	57
6.4.4	Saponin.....	58
6.5	Pengujian Aktivitas Antioksidan	59
6.5.1	Penentuan Panjang Gelombang	59
6.5.2	Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH	60
6.5.3	Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) dan Kuersetin.....	60
6.5.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) dan Kuersetin.....	61
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		64
7.1	Kesimpulan.....	65
7.2	Saran	65
DAFTAR PUSTAKA		66
LAMPIRAN		72

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Kandungan Tanaman Afrika.....	10
Tabel 2.2 Sumber Antioksidan Dari Alam.....	19
Tabel 2.3 Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH.....	22
Tabel 2.4 Spektrum Cahaya Tampak dan Warna Komplementer	26
Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	31
Tabel 5.1 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Afrika	44
Tabel 5.2 Nilai Absorbansi pada Optimasi Waktu Inkubasi.....	46
Tabel 5.3 % Inhibisi Fraksi Etil Asetat Daun Afrika.....	48
Tabel 5.4 % Inhibisi Kuersetin.....	49
Tabel 5.5 Nilai IC ₅₀ Fraksi Etil Asetat Daun Afrika.....	50
Tabel 5.6 Nilai IC ₅₀ Kuersetin.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	8
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	27
Gambar 5.1 Grafik Kurva Hasil Optimasi Waktu Inkubasi... ..	50
Gambar 5.2 Grafik Kurva Korelasi Log Konsentrasi Daun Afrika Dengan Probit... ..	50
Gambar 5.3 Grafik Kurva Korelasi Log Konsentrasi Kuersetin Dengan Probit	51
Gambar 6.1 Peredaman Radikal Bebas Oleh Flavonoid.....	56
Gambar 6.2 Peredaman Radikal Bebas Oleh Alkaloid	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan	75
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	76
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.) dan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.).....	80
Lampiran 4. Identifikasi Senyawa Kimia (Skrining Fitokimia)	80
Lampiran 5. Grafik Panjang Gelombang	83
Lampiran 6. Perhitungan DPPH dan Hasil Absorbansi	84
Lampiran 7. Perhitungan Larutan dan Hasil Absorbansi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika dan Kuersetin	84
Lampiran 8. Perhitungan % Inhibisi	87
Lampiran 9. Perhitungan IC50	92
Lampiran 10. Tabel Probit (Finney, 1971).....	117

DAFTAR SINGKATAN

DPPH	: 1,1- <i>Diphenyl-2-Picryl Hidrazil</i>
IC ₅₀	: Inhibition concentration 50%
Uv-Vis	: Ultra Violet-Visible
SOD	: Zn-superoksid dismutase
BHA	: Butil hidroksi anisol
BHT	: Butil hidroksi toluene
PG	: Propyl gallate
DG	: Dodecyl gallate
TBHQ	: Butylhydroquinone tersier

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses penuaan penduduk akan dengan cepat dialami negara-negara di kawasan Asia Pasifik. Pada tahun 2010 proporsi penduduk lanjut usia di Indonesia mencapai 10%. Indonesia diperkirakan akan memiliki 100 juta orang lanjut usia (lansia) pada tahun 2050. Jika penduduk usia 60 tahun ke atas sudah mencapai 7% dari total penduduk, maka penduduk tersebut dapat dikatakan berstruktur tua. Penuaan merupakan akumulasi perubahan progresif seiring waktu yang berhubungan dengan peningkatan kerentanan terhadap penyakit dan kematian seiring pertambahan usia dan jumlah kerusakan akibat reaksi radikal bebas yang terus-menerus terhadap sel dan jaringan (Zalukhu *et al*, 2016) .

Menurut Halliwell dalam Yuslianti (2017), radikal bebas merupakan suatu atom, gugus, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yaitu terdiri dari satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbit paling luar. Molekul tersebut antara lain logam-logam transisi, atom hidrogen, dan molekul oksigen. Hadirnya satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan menyebabkan suatu molekul mudah tertarik terhadap suatu medan magnetik (paramagnetik) serta mengakibatkan suatu molekul sangat reaktif. Suatu radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), bermuatan negatif (anion) atau tidak bermuatan. Dalam tubuh, radikal bebas dapat menjadi senyawa yang sangat reaktif dengan cara mengikat elektron molekul sel tubuh akibat adanya elektron-elektron yang tidak berpasangan pada senyawa radikal bebas. Reaksi tersebut

dapat berlangsung secara terus-menerus dalam tubuh dan menyebabkan berbagai penyakit seperti penuaan dini, stress oksidatif serta penyakit degeneratif lainnya. Sehingga diperlukan antioksidan untuk menangkap radikal bebas yang dapat menginduksi penyakit-penyakit tersebut (Hani et al, 2016).

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat mencegah atau menunda terjadinya reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas dalam oksidasi lipid (Yuslianti, 2017). Antioksidan juga dapat diartikan sebagai suatu molekul yang mampu menonaktifkan atau menstabilkan radikal bebas (Zalukhu *et al*, 2016).

Antioksidan dibagi menjadi dua berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan enzimatis (antioksidan yang berasal dari dalam tubuh), dan antioksidan non-enzimatis (antioksidan yang berasal dari alam sekitar dan dari hasil sintesis reaksi kimia) (Yuslianti, 2017). Manusia mempunyai antioksidan dalam tubuh (antioksidan enzimatis), namun jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih sehingga dibutuhkan antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis dibagi menjadi 2 berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Beberapa antioksidan sintetis mempunyai efek karsinogenik sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (Hani *et al*, 2016).

Menurut Quezada dalam Fauziah *et al* (2012), komponen senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan alami dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan. Salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang digunakan masyarakat dalam pengobatan tradisional guna mengatasi radikal bebas yaitu daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daun Afrika mengandung senyawa flavonoid yang

mampu mencegah berbagai penyakit terutama yang menyebabkan stress oksidatif. Penelitian terdahulu menemukan bahwa efek antioksidan dari flavonoid yang terkandung dalam daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) lebih kuat dibandingkan vitamin C dan vitamin E (Kapitan, 2018). Dalam pengujian antioksidan faktor lingkungan memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman yang akan di uji meliputi kandungan metabolit sekunder dalam tanaman. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman dibagi menjadi bagian atas tanah dan bawah tanah tumbuhan. Faktor lingkungan bagian atas tanah terdiri dari suhu udara, sinar matahari, kelembapan udara, hujan, dan kandungan gas di udara. Faktor lingkungan bagian bawah tanah terdiri dari kandungan air tanah, suhu tanah, salinitas, kandungan unsur hara, pH, tekstur dan struktur tanah, kandungan unsur toksik, dan aerasi tanah. Faktor lingkungan secara individu maupun interaksinya berpengaruh langsung ataupun tidak langsung terhadap pertumbuhan tanaman (Taufiq & Sundari, 2012).

Berdasarkan penelitian tentang uji antioksidan daun Afrika sebelumnya pernah dilakukan oleh Febrianti *et al*, (2017), ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai potensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 175, 021 ppm. Didukung penelitian Fatimah & Sundu, (2020) bahwa fraksi n-heksan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid.

Berdasarkan beberapa penelitian di atas, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel fraksi Etil-Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar

potensi antioksidan dari fraksi Etil-Asetat ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Metode penelitian antioksidan yang digunakan adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometer UV-VIS (Ultra Violet-Visible). Prinsip kerja dari metode DPPH adalah dengan adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga dapat menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Perubahan tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antioksidan). Pada penetapan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH parameter IC_{50} yang digunakan untuk menangkap radikal bebas yaitu sebanyak 50% (Setiawan *et al*, 2018). Penggunaan metode DPPH untuk uji antioksidan sering dipilih karena prosesnya cepat, mudah, peka dan memerlukan sedikit sampel (Lung & Destiani, 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana identifikasi senyawa kimia pada fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)?
2. Berapa nilai inhibisi konsentrasi 50% (IC_{50}) pada fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengidentifikasi senyawa kimia fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mampu menghasilkan aktivitas antioksidan.
2. Untuk menganalisis nilai IC₅₀ pada fraksi etil asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan adanya hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi beberapa manfaat. Adapun manfaat dari penelitian ini sebagai berikut :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) 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 serta dapat digunakan sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya yang terkait dengan antioksidan.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi serta pengetahuan tambahan untuk kemajuan dalam bidang kesehatan dan pengetahuan alam terhadap potensi antioksidan fraksi etil asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) .

1.4.4 Manfaat bagi institusi pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi kontribusi penambahan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu kefarmasian terkait antioksidan, dapat menjadi bahan bacaan di perpustakaan, serta dapat menjadi referensi bagi mahasiswa lain.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Fatimah & Sundu, 2020	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan sampel Daun Afrika	a) Ekstraksi menggunakan pelarut etanol b) Menggunakan metode ekstraksi fraksinasi n-heksan
Febrianti <i>et al</i> , 2017	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan sampel Daun Afrika c) Menggunakan pelarut metanol	a) Menggunakan metode ekstraksi maserasi, sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi fraksinasi etil asetat

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Wientarsih <i>et al</i> , 2013	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan pelarut metanol	a) Pada penelitian sebelumnya menggunakan sampel Daun Pegagan b) Pada penelitian sebelumnya menggunakan metode ekstraksi metanol, sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi fraksinasi etil asetat

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

2.1.1 Klasifikasi



Gambar 2.1 Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) (Ijeh & Ejike, 2011)

Berikut adalah sistematika tumbuhan (Farombi & Owoeye, 2011) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Ordo	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: Vernonia
Spesies	: <i>V. amygdalina</i>

2.1.2 Nama lain tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Menurut Egedigwe dalam Ijeh & Ejike (2011), daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai sinonim seperti *bitter leaf* (daun pahit) di Nigeria bagian utara biasa disebut *Shiwaka*, *Grawa* di Amharic, *Etidot* di Ibibio, *Ewuro* di Yoruba, *Ityuna* di Tiv, *Onugbu* di Igbo, *Chusar-doki* di Hausa, *Eriwo* di Edo, *Nan Fei Shu* di Cina, dan disebut daun kupu-kupu di Malaysia. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) juga mempunyai nama daerah di Indonesia seperti daun insulin di Padang dan daun pahit di Jawa.

2.1.3 Morfologi tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Menurut Kharimah *et al* (2016), daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) memiliki morfologi sebagai berikut : Berbatang tegak, tinggi 1-3 m, bulat, berkayu, berwarna coklat; daun majemuk, anak daun berhadapan, panjang 15-25 cm, lebar 5-8 cm, tebal 7-10 mm, berbentuk lanset, ujung runcing, bergerigi, pertulangan menyirip, pangkal membulat, berwarna hijau tua; akar tunggang.

2.1.4 Kandungan kimia tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) telah terbukti mengandung jumlah lipid yang signifikan, protein dengan asam amino esensial yang tinggi, karbohidrat, serat, asam askorbat, karotenoid, kalsium, besi, kalium, fosfor, mangan, tembaga, dan kobalt dalam jumlah yang signifikan (Ijeh & Ejike, 2011).

Dari data yang diperoleh dalam penelitian Hirata *et al* dalam Fatimah & Sundu (2020) menyatakan bahwa tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) memiliki senyawa kimia yang terkandung dalam daun sebagai berikut :

Tabel 2.1 Kandungan Tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

No	Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Steroid / triterpenoid	+
5	Saponin	+

2.1.5 Khasiat tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Penggunaan tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada pengobatan tradisional digunakan sebagai anti cacing, malaria, pencahar, penurun panas, dan sebagi pengobatan luka. Di Nigeria utara, Dalziel merupakan penemu pertama yang menyatakan bahwa akar dan ranting dari tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dapat digunakan sebagai pengobatan masalah perut, pencernaan, dan di beberapa wilayah Nigeria batang dari tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) digunakan sebagai stik kunyah yang digunakan untuk kebersihan mulut dan untuk beberapa masalah pada gigi. Di Ghana, rebusan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) digunakan sebagai obat demam akibat malaria dan batuk. Di Malawi dan Uganda, tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) digunakan oleh bidan untuk membantu pengeluaran plasenta, membantu kontraksi pada uterus post partum serta membantu proses menyusui dan mengontrol pendarahan (Ijeh & Ejike, 2011).

2.2 Tinjauan Maserasi dan Fraksinasi

2.2.1 Maserasi

Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang sangat sederhana. Dengan cara merendam serbuk simplisia menggunakan pelarut yang cocok dan tanpa suatu proses pemanasan atau dalam suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Prinsip kerja maserasi yaitu pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel lalu masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan zat aktif dan pelarut akan menyebabkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang terdapat di dalam sel mengandung zat aktif, sedangkan pelarut yang terdapat di luar sel belum terisi oleh zat aktif sehingga terjadi ketidak seimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dengan konsentrasi di luar sel. Perbedaan konsentrasi tersebut akan menyebabkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dari sel dan tergantikan oleh pelarut berkonsentrasi rendah. Peristiwa ini akan terjadi berulang-ulang hingga di dapat kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam dan di luar sel. Maserasi biasanya dilakukan pada rentang suhu 15°-20°C (Marjoni, 2016).

Dalam penelitian ini menggunakan metode yang dilakukan Suputri *et al* (2021) dengan beberapa modifikasi pada perbandingan simplisia dan pelarut serta proses pengentalan ekstrak.

2.2.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan yang dilakukan pada pemisahan golongan senyawa berdasarkan polaritas (Hanani, 2020). Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan suatu senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam tanaman sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Zirconia *et al*, 2015). Pada umumnya ekstraksi yang digunakan untuk pemisahan adalah ekstraksi fraksinasi (cair-cair) dengan menggunakan alat sederhana yaitu corong pisah (Hanani, 2020). Prinsip dari metode fraksinasi cair-cair adalah menarik senyawa pada suatu ekstrak menggunakan dua pelarut yang tidak bercampur seperti air (polar) dengan kloroform (nonpolar) (Suputri *et al*, 2021 ; Hanani, 2020). Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi yaitu Etil-Asetat dan metanol (Suputri *et al*, 2021).

Dalam penelitian ini menggunakan metode fraksinasi cair-cair yang dilakukan oleh Suputri *et al* (2021) dengan beberapa modifikasi pada perbandingan pelarut serta proses pengentalan ekstrak.

2.2.3 Pelarut

Pelarut pada umumnya merupakan zat yang berada di dalam larutan dengan jumlah besar, sedangkan zat lain dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi harus menggunakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel, sehingga zat aktif dapat terpisahkan dari simplisia dan senyawa lain yang terdapat dalam sampel atau simplisia (Marjoni, 2016). Menurut Harborne dalam Suryani *et al*, 2015, dalam pemilihan jenis

pelarut ada beberapa faktor yang harus dipertimbangkan antara lain selektivitas, toksisitas, kemampuan dalam mengekstrak, mudahnya dalam proses penguapan, dan harga pelarut. Pelarut yang digunakan juga harus sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan (Suryani *et al*, 2015). Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut tergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* atau bisa diartikan suatu senyawa akan terlarut dalam pelarut yang memiliki sifat yang sama (Verdiana *et al*, 2018).

Pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol dan Etil-Asetat, karena menurut Putri *et al*, (2013), Etil-Asetat merupakan pelarut yang memiliki toksisitas rendah yang bersifat semi polar. Dan menurut Suputri *et al*, (2021), metanol merupakan pelarut polar yang dapat menarik senyawa polar. Di dukung dengan penelitian Huliselan *et al*, (2015), yang menyatakan bahwa perhitungan IC_{50} ekstrak Etil-Asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan n-heksan. Sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dalam daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

2.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang biasa digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat dalam sampel mengenai biosintesis, struktur kimia, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis

tanaman. Sampel tanaman yang biasa digunakan dalam pengujian fitokimia yaitu berupa batang, daun, buah, bunga, dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan dapat digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Muthmainnah, 2017).

Dalam penelitian ini dilakukan skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder yang mencakup flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan tanin yang terdapat dalam fraksi Etil-Asetat daun Afrika.

2.4 Radikal bebas

2.4.1 Definisi

Menurut Nabat dalam Astuti (2012), radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif merupakan suatu molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan dalam orbital terluarnya. Radikal bebas memiliki sifat reaktivitas yang sangat tinggi yaitu cenderung menarik elektron dan mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas baru sehingga terjadi reaksi rantai (Yuslianti, 2017). Hal tersebut yang menyebabkan radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi atau sel yang berada disekitar. Radikal bebas dapat mengganggu produksi prostaglandin, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi DNA, dan protein lain atau enzim yang berada dalam tubuh (Wenrdhasari, 2014).

Radikal bebas yang menarik elektron dari DNA dapat menyebabkan perubahan pada struktur DNA hingga menimbulkan sel-sel mutan. Bila mutasi ini

terjadi secara terus-menerus dapat mengakibatkan terjadinya kanker. Radikal bebas juga memiliki peran dalam proses penuaan, dimana terjadinya reaksi inisiasi radikal bebas di mitokondria menghasilkan radikal bebas baru yang bersifat reaktif (Werdhasari, 2014).

2.4.2 Sumber

Menurut Yuslianti (2017), sumber radikal bebas terdiri dari dua yaitu radikal bebas endogen (sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh), dan radikal bebas eksogen (radikal bebas yang berasal dari luar tubuh). Radikal bebas endogen yaitu berasal dari fagositosis dalam respirasi, oksidasi enzimatis, autoksidasi, transport elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, atau melalui iskemik. Radikal bebas eksogen yaitu berasal dari hasil penyinaran ultra violet, asap rokok, zat kimiawi dalam makanan, dan polutan lain (Werdhasari, 2014). Produksi radikal bebas endogen maupun eksogen yang berlebihan dapat mengakibatkan stres oksidatif (Yuslianti, 2017).

2.4.3 Mekanisme

Mekanisme pembentukan radikal bebas terdiri dari tahap inisiasi (pembentukan awal radikal bebas), tahap propagasi (perambatan atau terbentuknya radikal baru), dan tahap terminasi (pemusnahan) atau pengubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Yuslianti, 2017). Tahap inisiasi adalah suatu langkah pertama terciptanya spesies radikal. Tahapan inisiasi biasa disebut dengan peristiwa homolitik yang terjadi karena hambatan energi. Tahapan ini terjadi karena pengaruh dari suhu tinggi, UV ataupun katalis yang

mengandung logam digunakan sebagai penghalang energi (Labola & Puspita, 2017). Pada tahap propagasi terjadi suatu pemanjangan rantai radikal. Reaksi ini dilakukan untuk melanjutkan rangkaian proses oksidasi kedua sehingga reaksi menyebar dan satu molekul radikal dari proses inisiasi dapat menyebabkan oksidasi banyak molekul (Yuslianti, 2017). Tahap terminasi adalah suatu proses dimana reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan spesies non radikal (Labola & Puspita, 2017).

2.4.4 Penyakit yang ditimbulkan radikal bebas

Pada konsentrasi rendah hingga menengah, radikal bebas memberikan efek melalui regulasi kaskade pensinyalan sel. Pada konsentrasi tinggi, radikal bebas akan merusak semua makromolekul, menyebabkan kerusakan DNA, protein modifikasi, peroksidasi lipid, dan mengakibatkan terjadinya kematian sel yang menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit. Penyakit yang timbul akibat radikal bebas seperti penuaan, aterosklerosis, kanker, penyakit jantung iskemik, dan penyakit Alzheimer (Santo *et al*, 2016).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi

Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan suatu radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan juga mampu menunda atau menghambat oksidasi sebuah substrat (Zalukhu *et al*, 2016).

2.5.2 Macam-macam

1. Antioksidan berdasarkan sumbernya

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua macam yaitu antioksidan enzimatik (antioksidan berasal dari dalam tubuh), dan antioksidan non-enzimatik (antioksidan berasal dari luar tubuh) (Yuslianti, 2017). Antioksidan enzimatik dapat berupa glutathion peroksidase (GPx), catalase (CAT), dan superoksida dismutase (SOD). Antioksidan non-enzimatik dapat berupa antioksidan larut air (asam askorbat), antioksidan larut lemak (karoten, tokoferol, flavonoid, quinon, dan lain-lain) (Putri, 2018). Namun ada juga jenis antioksidan lainnya yaitu antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang tidak terdapat di alam tetapi dihasilkan dari sintesis secara kimiawi dan sering digunakan dalam makanan sebagai pengawet untuk membantu mencegah oksidasi lipid. Beberapa antioksidan sintetis yang diizinkan untuk digunakan dalam makan saat ini yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT), propyl gallate (PG), dodecyl gallate (DG), dan butylhydroquinone tersier (TBHQ) (Kebede & Admassu, 2019).

2. Antioksidan berdasarkan komponen pembentuknya

Menurut Yuslianti (2017), berdasarkan komponen pembentuknya antioksidan dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan yang dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) dan antioksidan yang dihasilkan dari makanan (eksogen). Komponen endogen dalam sistem antioksidan yaitu Fe-katalase, glutathion, NADPH, Mn, Cu, Zn-superoksida dismutase (SOD), asam lemak, asam urat, ubiquinol-10 (mengurangi koenzim Q₁₀), hormon dengan aktifitas

antioksidan (DHEA, melatonin), metal binding seperti albumin (albumin terikat dengan thiol dan bilirubin), Fe dan Cu-binding protein (ceruloplasmin, transferin), dan Fe-complex binding protein (hemopexin, heptoglobin). Komponen eksogen dalam sistem antioksidan yaitu askorbat (vitamin C), tokoferol dan tokotrienol (vitamin E), vitamin A dan karotenoid, Se dan logam esensial yang berfungsi sebagai enzim antioksidan, suplemen, dan antioksidan makanan (BHT, BHA, TBHQ, PG, ekstrak rosemary).

3. Antioksidan berdasarkan fungsinya

Berdasarkan fungsinya dalam meredam radikal bebas, antioksidan dibedakan menjadi tiga yaitu antioksidan primer (untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru), antioksidan sekunder (untuk menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai), antioksidan tersier (memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas) (Yuslianti, 2017).

4. Mekanisme

Menurut Yuslianti (2017), mekanisme kerja antioksidan secara umum yaitu menghambat oksidasi lemak. Dari beberapa macam antioksidan yang ada, mekanisme kerja dan kemampuannya sebagai antioksidan sangatlah bervariasi. Kombinasi dari beberapa jenis antioksidan dapat memberi perlindungan yang sinergisme (lebih baik) terhadap oksidasi dibanding dengan penggunaan satu jenis antioksidan, sehingga penggunaan kombinasi dari jenis antioksidan sering digunakan. Contohnya asam askorbat seringkali dikombinasikan dengan antioksidan senyawa fenolik sebagai pencegahan

reaksi oksidasi lemak, vitamin E dan vitamin C yang dikombinasikan dengan senyawa glutathion, seng, betakaroten, selenium, dan mangan akan memudahkan proses pelumpuhan radikal bebas. Antioksidan yang memiliki berat molekul rendah dapat berinteraksi dengan radikal bebas serta dapat menghentikan reaksi berantai sebelum terjadi kerusakan pada molekul penting yang mengakibatkan berbagai penyakit (Kebede & Admassu, 2019).

5. Sumber

Menurut penelitian yang telah dilakukam, banyak terdapat sumber antioksidan eksogen yang dihasilkan dari bahan alam. Beberapa diantaranya yaitu daun binahong (Selawa *et al*, 2013), buah jeruk Bali, buah paprika hijau, buah tomat, dan buah sirsak (Hani & Milanda, 2016), dan kayu secang (Setiawan *et al*, 2018). Beberapa tanaman dan buah tersebut memiliki aktivitas antioksidan karena terdapat kandungan metabolit sekunder flavonoid di dalamnya. Flavonoid adalah salah satu senyawa yang dapat mengobati penyakit seperti bakteri patogen, kanker, radang, disfungsi kardio-vaskular, dan mempunyai kemampuan antioksidannya dalam mencegah terjadinya luka yang disebabkan oleh radikal bebas (Arifin & Ibrahim, 2018).

Tabel 2.2 Sumber antioksidan dari alam (Kebede & Admassu,2019)

Senyawa	Sumber
Catechin	Teh hijau, buah beri, dan minyak sayur tertentu.
Karotenoid	Wortel, sayur berdaub gelap, tomat, ubi jalar, buah jeruk, aprikot, papaya, dan kankung.
Lycopene	Papaya, tomat, jambu biji, dan semangka.
Flavonoid (Polifenol)	Beri, selada, terong, jeruk, paprika,

	minyak sayur, the hitam, dan bawang.
Vitamin E (Tokoferol)	Kacang-kacangan, minyak sawit, telur, biji-bijian utuh, sereal, produk susu, sayuran, margarin, dan lain-lain.
Vitamin C	Buah dan sayur, paprika hijau, dan kentang.
Asam fenolat	Sereal, minyak sayur dan minyak tertentu, biji-bijian.
Ekstrak	Ekstrak dari rosemary, sage, the hijau, oregano, cengkeh, oat, timi, dan dedak beras.

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Metode antioksidan yang sering digunakan ada Sembilan yaitu 2, 2-azino-bis-(3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS); 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH); Pottasium Ferricyanide Reducing Power (PFRAP); Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP); Cupric Reducing Antioxidant Power (CUPRAC); Hydroxyl Radical Averting Capacity (HORAC); Oxygen Radical Absorption Capacity (ORAC); Total Peroxyl Radical Antioxydant Parameter (TRAP), dan Flourimetry (Pisoschi & Negulescu, 2011).

Pada penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk penetapan aktivitas antioksidan. Metode DPPH merupakan suatu metode yang dapat dilakukan secara in vitro yang sering digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan karena mudah, sederhana, cepat, cepat, dan hanya memerlukan sedikit sampel (Lung & Destiani, 2017).

2.6.1 DPPH

1. Definisi

DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil sehingga jika digunakan untuk pereaksi pada penangkapan radikal bebas cukup dengan cara dilarutkan dan disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. DPPH mempunyai nilai absorbansi berkisar 515-520 nm (Tristantini *et al*, 2016). Metode DPPH adalah suatu metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan karena mudah, cepat, sederhana, peka, dan memerlukan sedikit sampel (Lung & Destiani, 2017).

2. Mekanisme

Menurut Mosquera *et al* dalam Azizah *et al* (2017), mekanisme kerja dari DPPH yaitu dengan cara mekanisme donasi atom hidrogen yang bereaksi dengan senyawa antioksidan hingga menimbulkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Tingkat perubahan warna tersebut yang mengindikasikan potensi senyawa antioksidan dalam kemampuannya mendonorkan atom hidrogen. Semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam sampel maka warna ungu DPPH akan semakin menurun hingga menyebabkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak pada spektrofotometer (Lisi *et al*, 2017). Radikal DPPH memiliki nilai absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm (Souhoka *et al*, 2019).

3. Tingkat kekuatan

Menurut Agustina *et al* (2020), tingkat kekuatan yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH yaitu nilai konsentrasi hambatan atau nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ dapat

diartikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi.

Tabel 2.3 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Sumber: Agustin *et al*, 2020)

Intensitas Kekuatan Aktivitas	Nilai C
Sangat kuat	<50 $\mu\text{g/mL}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/mL}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/mL}$
Lemah	>150 $\mu\text{g/mL}$

2.7 Instrumen Spektrofotometer UV-VIS

2.7.1 Definisi

Spektrofotometer UV-VIS merupakan suatu instrument yang digunakan untuk mengkaji sifat absorpsi dari material sebagai fungsi panjang gelombang (Due *et al*, 2019). Spektrofotometer UV-VIS memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah *visible* (sinar tampak). Spektrofotometer UV-VIS memiliki dua jenis yaitu single beam dan double beam. Perbedaan dari dua jenis spektrofotometer UV-VIS adalah pada spektrofotometer UV-VIS *double beam*. Pada spektrofotometer UV-VIS *double beam* yaitu cara pengukurannya dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang

sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur secara bersamaan. Pada proses pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-VIS *single beam* dilakukan satu persatu antar kuvet berisi blanko dan kuvet yang berisi larutan standar sehingga dalam proses pembacaan serapan zat terkadang dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik (Warono & Syamsudin, 2013).

2.7.2 Bagian-bagian

Secara umum sistem dari spektrofotometer UV-VIS terdiri dari:

1. Sumber radiasi

Sumber radiasi pada spektrofotometer UV-VIS adalah lampu hidrogen (deuterium) dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet hingga 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak dengan panjang gelombang 350-250 nm. Fungsi dari sumber radiasi yaitu untuk memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran (Warono & Syamsudin, 2013).

2. Monokromator

Monokromator memiliki fungsi sebagai penghasil radiasi monokromatis yang diperoleh dan dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin putar (Warono & Syamsudin, 2013).

3. Kuvet

Kuvet merupakan tempat dari bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus terbuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya kuvet terbuat dari kaca tembus sinar atau terbuat dari plastik. Kuvet yang terbuat dari kuarsa baik digunakan pada spektrofotometer UV-VIS (Warono & Syamsudin, 2013).

4. Fotosel

Fotosel memiliki fungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan zat kemudian mengubahnya menjadi energi listrik dan disampaikan ke detektor (Warono & Syamsudin, 2013).

5. Detektor

Detektor merupakan material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya menjadi energi listrik (Warono & Syamsudin, 2013).

6. Display

Display memiliki fungsi untuk mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa angka yang sesuai dengan hasil analisis (Warono & Syamsudin, 2013).

2.7.3 Prinsip Kerja

Prinsip kerja dari spektrofotometer berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan pada suatu larutan dengan panjang gelombang tertentu sehingga sebagian sinar tersebut diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan (Warono & Syamsudin, 2013).

2.7.4 Syarat Pengukuran

Spektrofotometer UV-VIS dapat digunakan untuk penentuan sampel yang berupa gas atau uap, dan larutan. Pada umumnya sampel yang akan digunakan harus diubah menjadi larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan memiliki syarat tertentu untuk pelarut yang digunakan yaitu : tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak mengabsorpsi sinar yang digunakan oleh sampel), harus dapat melarutkan sampel dengan sempurna, memiliki kemurnian yang tinggi, dan tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis (Suhartati, 2017).

2.7.5 Hasil

Hasil analisis dari spektrofotometer UV-VIS dapat disebut absorbansi. Pembacaan absorbansi setidaknya berada dikisaran 0,2-0,8 atau 15-70% jika dibaca sebagai transmittan (T). Hal ini dikarenakan pada kisaran daerah tersebut minim terjadinya kesalahan fotometrik yang terjadi akibat pembiasan cahaya paling minimal sehingga terjadinya penyimpangan sangat rendah berkisar 0,005% hingga 0,5% (Yanlinastuti *et al*, 2012). Puncak panjang gelombang yang muncul berbeda-beda tergantung dari warna analit tersebut. Spektrum cahaya tampak dapat dilihat pada tabel 2.

2.7.6 Pengujian Secara In Vitro

Pengujian secara in vitro merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal (Ikrom *et al*, 2014). Metode in vitro yang berfungsi untuk mengevaluasi efektivitas senyawa antioksidan dibagi menjadi berbagai matrik (ekstrak tumbuhan, serum darah, dan lain-lain) menggunakan

media hidrofilik, lipofilik, dan amfifilik (emulsi). Metode *in vitro* dibagi menjadi dua kelompok yaitu reaksi hydrogen atom transfer (HAT) dan transfer of single electron (SET). Metode *in vitro* banyak digunakan karena memiliki kecepatan dan sensitivitas yang tinggi (Sanchez *et al*, 2019).

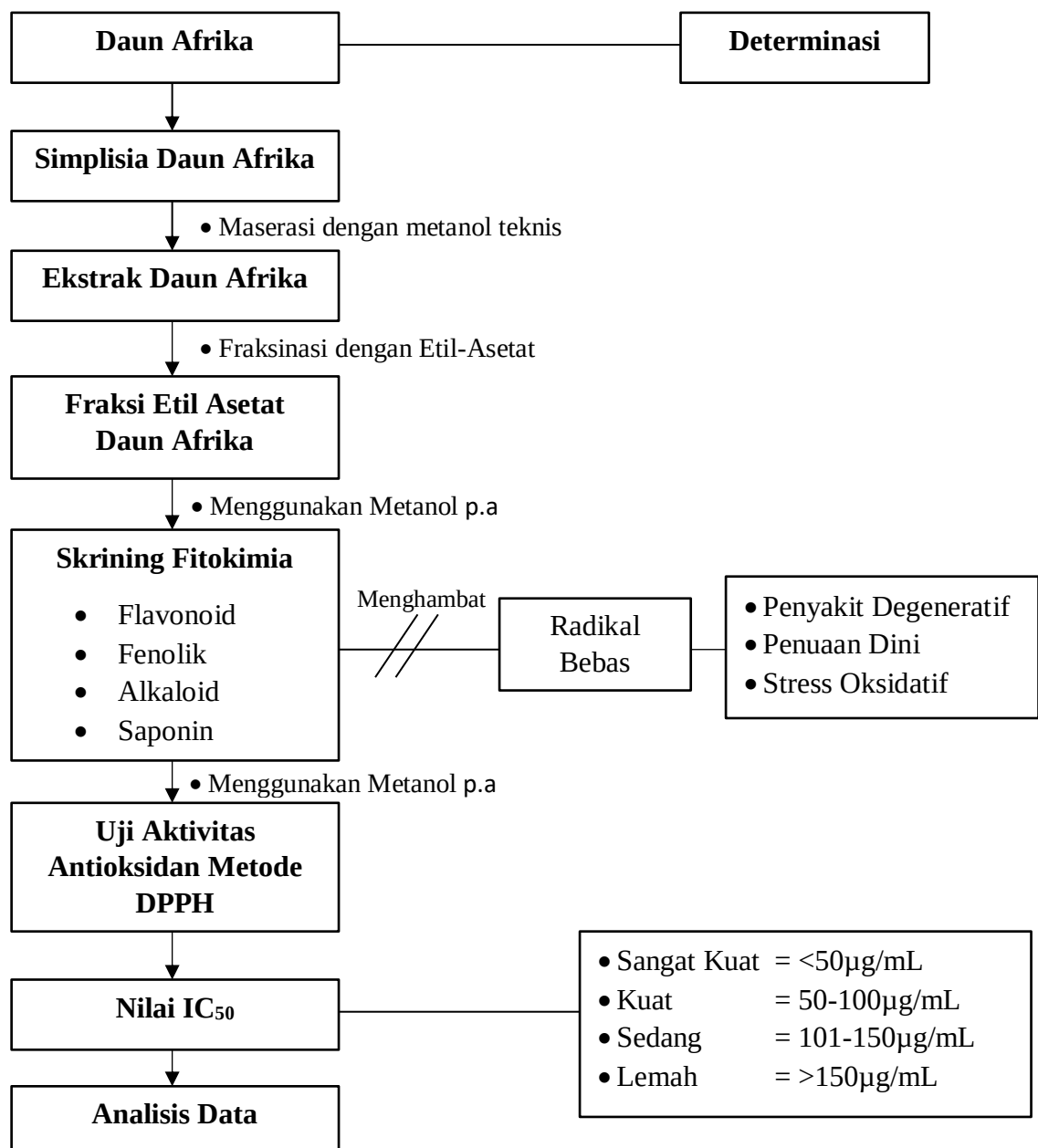
Tabel 2.4 Spektrum cahaya tampak dan warna komplementer. (Sumber: Huang, 2010)

Puncak gelombang (nm)	Warna
393	Kuning muda
405	Kuning
427	Oranye muda
461	Merah oranye
502	Merah
518	Merah tua
536	Ungu
552	Ungu violet
572	Violet
606	Biru
646	Biru muda
738	Hijau

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka berfikir (kerangka konsep) merupakan model konseptual tentang bagaimana teori berhubungan dengan berbagai faktor yang telah diidentifikasi sebagai masalah yang penting (Sugiyono, 2015).



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Menurut Sugiyono (2016), hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap rumusan masalah penelitian. Berdasarkan rumusan masalah yang telah dibuat, maka yang menjadi hipotesis adalah :

H1: Terdapat aktivitas antioksidan pada fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Uji antioksidan dari fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) merupakan suatu penelitian eksperimen laboratorium menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*).

4.2 Determinasi

Determinasi daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan cara membawa semua bagian dari tanaman. Tujuan dari determinasi yaitu untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan benar-benar spesies dari (*Vernonia amygdalina* Del.).

4.3 Populasi

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas : obyek atau subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2016). Populasi dalam penelitian ini adalah daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang di diambil dari Madura, Jawa Timur berwarna berwarna hijau segar pada helai ke lima dari pucuk.

4.4 Sampel Penelitian

Sampel merupakan jumlah dan karakteristik yang dimiliki populasi, ataupun bagian kecil dari anggota populasi yang diambil menggunakan prosedur tertentu sehingga dianggap mewakili populasinya (Siyoto & Sodik, 2015). Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan nonprobability sampling dengan teknik purposif sampling. Purposif sampling merupakan teknik penentuan sampel dengan kriteria tertentu (Sugiyono, 2016). Pada penelitian ini, sampel yang digunakan yaitu fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang dibuat beberapa konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm).

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.5.1 Lokasi

Penelitian ini dilakukan di dua laboratorium yaitu Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dimulai dari bulan Februari-April 2022.

4.6 Variabel Penelitian

4.6.1 Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2019). Variabel bebas dalam penelitian adalah sampel fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

4.6.2 Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2019). Variabel dari penelitian adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .

4.7 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Pengertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Sampel fraksi Etil-Asetat daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.)	Suatu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi yang dilanjutkan dengan proses ekstraksi fraksinasi	Fraksi Etil-Asetat daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) diencerkan menggunakan metanol hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm	Maserator	Skala rasio	Dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur, dipipet larutan induk sesuai konsentrasi yang digunakan dan dimasukkan ke dalam larutan sampel. • 50 ppm = 0,25 mL • 100 ppm = 0,5 mL • 150 ppm = 0,75 mL • 200 ppm = 1 mL • 250 ppm = 1,25 mL
Aktivitas antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada sampel	Pengukuran aktivitas antioksidan	Spektrometer UV-VIS	Skala Ordinal	• Sangat kuat, jika hasil

Variabel	Pengertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
	daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) kemudian dihitung persen peredaman dan ditentukan penghambata n 50% (IC ₅₀)	dilakukan dengan cara memipet dari masing- masing larutan uji sampel dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm), kemudian ditambahka n larutan DPPH sebanyak 3,5 mL hingga homogen. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada campuran dalam suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum			yang didapat <50µg/mL ● Kuat, jika hasil yang didapat 50-100µg/mL ● Sedang, jika hasil yang didapat 101-150µg/mL ● Lemah, jika hasil yang didapat >150µg/mL

4.8 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.8.1 Alat dan Bahan

1. Alat

Spektrofotometer UV-VIS, water bath, timbangan analitik, toples maserasi, corong Buchner, alat-alat gelas, alumunium foil, spatula, vial, kuvet disposable, blender, kertas saring, cawan.

2. Bahan

Simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang diperoleh di daerah Sumenep, Madura, metanol p.a, metanol teknis, Etil-Asetat, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*), kuersetin p.a, aquades, kertas saring, HCl, H₂SO₄, FeCl₃ 1%, Meyer.

4.8.2 Teknik Pengumpulan Data

1. Persiapan dan pembuatan Serbuk Simplisia Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Sumenep, Madura. Sampel yang digunakan adalah daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) berwarna hijau segar pada helai ke lima dari pucuk serta diambil pada saat fotosintesis pukul 10.00 agar diperoleh zat yang maksimal (Kusumawati, *et al*, 2018).

b. Pengolahan Sampel

Menurut DepKes RI dalam Wahyuni (2014), pembuatan simplisia pada umunya melalui beberapa tahapan yaitu pengumpulan simplisia,

sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan serta penyimpanan.

Pada penelitian ini, pengolahan sampel daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) melalui tahap sortasi basah yang dilakukan dengan cara dibersihkan dengan air mengalir, lalu dirajang. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan proses pengeringan sampel dengan cara diangin-anginkan dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan sinar matahari. Namun, dilakukan pemasangan paranit di atas agar cahaya matahari tersaring. Hal ini dilakukan agar tidak terjadi kerusakan pada daun. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah benar-benar kering dipisahkan dari sisa-sisa kotoran yang tersisa, lalu di blender hingga menghasilkan serbuk simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

2. Ekstraksi dan Fraksinasi

a. Ekstraksi metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Proses ekstraksi metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode maserasi yang mengacu pada penelitian Ramadhani, *et al*, 2020, ekstrak daun Afrika dibuat dengan metode maserasi dengan metanol perbandingan 1:5 selama 3 hari dan dilanjutkan dengan proses remaserasi dengan perbandingan 1:3 selama 1 kali 24 jam.

- b. Fraksi Etil-Asetat ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Proses fraksinasi mengacu pada metode penelitian Suputri *et al* (2021), fraksinasi ekstrak dilakukan menggunakan metode dengan beberapa modifikasi. Fraksinasi dilakukan dengan cara mensuspensikan ekstrak kental menggunakan pelarut metanol:air (1:1). Partisi selanjutnya dilakukan menggunakan Etil-Asetat dengan perbandingan metanol:Etil-Asetat (1:1). Langkah terakhir yaitu dilakukan proses pengentalan hasil fraksinasi menggunakan water bath pada suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$.

3. Identifikasi Kualitatif Fraksi Etil-Asetat Daun Afrika

- a. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg sampel ditambahkan metanol sebanyak 4 mL lalu di panaskan. Filtrat yang didapat dari pemanasan dengan metanol ditambahkan H_2SO_4 . Jika terbentuk warna hijau kehitaman berarti sampel tersebut mengandung flavonoid (Kurang & Adang, 2018).

- b. Uji Fenolik

Sebanyak 1 mg sampel ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Sampel yang positif mengandung fenol akan mengalami perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Kurang & Adang, 2018).

c. Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 2 mL HCl dan pereaksi mayer, lalu diamati jika larutan menjadi keruh dan terdapat endapan berarti sampel mengandung alkaloid (Akasia, *et al*, 2020).

d. Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 5 mL air dan 1 tetes HCl lalu di kocok selama 20 detik, dan amati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk busa yang tidak hilang selama 20 menit, maka menunjukkan adanya saponin pada sampel (Kurang & Adang, 2018).

4. Uji Antioksidan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Menurut Brand Williams dalam Handayani *et al* (2014), pembuatan larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 1,25 mg dilarutkan dengan 25 mL metanol p.a dalam labu tentukur.

b. Pembuatan Larutan Sampel

Menurut Brand Williams dalam Handayani *et al* (2014), dibuat larutan stok dengan konsentrasi 500 ppm dengan cara menimbang fraksi Etil-Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan metanol sambil di aduk hingga homogen, lalu ditambahkan volume metanol hingga 10 mL. Kemudian dibuat variasi konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 dan 250 ppm.

c. Pembuatan Larutan Pembanding

Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 200 ppm dengan cara menimbang kuersetin sebanyak 2 mg, kemudian larutkan dengan metanol sambil di aduk hingga homogen lalu ditambahkan volume metanol hingga 10 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Handayani *et al*, 2014).

d. Penentuan Absorbansi DPPH

Penentuan absorbansi DPPH memiliki tujuan untuk mengetahui seberapa besar yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Alat yang digunakan pada proses penentuan absorbansi DPPH ini yaitu spektrofotometer UV-VIS. Penentuan absorbansi DPPH yaitu dilakukan dengan cara memipet 4 mL DPPH. Langkah selanjutnya yaitu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani *et al*, 2014).

e. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi bertujuan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Optimasi dapat dilakukan dengan cara memipet 0,5 mL dari setiap larutan uji fraksi dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm), kemudian tambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Nilai absorbansi dapat diamati pada panjang gelombang maksimum 517 nm yang dimulai pada menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Handayani *et al*, 2014 ; Fatoni, 2019).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Fraksi Etil-Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan cara memipet sebanyak 0,5 mL dari setiap sampel dengan konsentrasi (50, 100, 150, 200, dan 250 ppm) dan larutan kuersetin dengan konsentrasi (10, 20, 30, 40, dan 50 ppm), lalu ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL dan aduk hingga homogen. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan inkubasi pada setiap campuran dalam suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm (Handayani *et al*, 2014).

4.8.3 Perhitungan IC₅₀

Hasil pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk menghitung presentase peredaman radikal bebas DPPH. Menurut Kapitan, (2021), persen (%) peredaman radikal bebas DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi larutan uji}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ (inhibition concentration 50) adalah konsentrasi antioksidan (µg/mL) yang memiliki kemampuan memberikan persen penangkapan radikal bebas sebanyak 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis. Nilai IC₅₀ diperoleh dari beberapa tahapan yaitu menghitung log konsentrasi dan nilai probit dari masing-masing persen inhibisi dari ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan kuersetin. Nilai probit ditentukan dengan cara memplotkan persen inhibisi ke tabel probit (Finney, 1971) (Setiawati, *et al*, 2014). Kemudian menghubungkan nilai log konsentrasi dan nilai probit yang diperoleh dalam suatu grafik, dimana nilai log konsentrasi sebagai X dan nilai probit sebagai sumbu Y hingga didapatkan persamaan regresi. Dari hasil persamaan regresi yang diperoleh, nilai X dapat ditentukan setelah mengganti nilai Y = 5 yang merupakan harga probit dari 50%. Nilai IC₅₀ dapat ditentukan dengan menggunakan rumus IC₅₀ = Antilog X (Rizkayanti, *et al*, 2017).

4.8.4 Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel untuk menganalisis persamaan linier dan metode analisis probit dengan melihat nilai probit pada tabel probit (Finney, 1971) (Setiawati, *et al*, 2014). Data diolah menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* dengan cara menghubungkan nilai log konsentrasi dan nilai probit hingga diperoleh dalam suatu grafik, dimana nilai log konsentrasi sebagai X dan nilai probit sebagai sumbu Y, kemudian akan muncul persamaan linier. Persamaan linier digunakan untuk menghitung IC_{50} (Rizkayanti, *et al*, 2017).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini, determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa daun Afrika yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipastikan dari spesies *Vernonia amygdalina* yang tergolong dalam suku *Asteraceae*. Hasil identifikasi daun Afrika dapat dilihat pada (Lampiran 1).

5.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Sebelum dilakukan proses ekstraksi pada sampel daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.), terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel yang diikuti dengan proses pencucian. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari. Setelah dikeringkan, sampel dihaluskan menggunakan blander hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk halus yang telah didapat kemudian di maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 hari sambil diaduk sesekali di jam yang sama saat awal maserasi. Setelah di maserasi selama 3 hari, serbuk yang telah di rendam di saring menggunakan kertas saring untuk diambil larutan kemudian dilakukan remaserasi selama 1 kali 24 jam.

Hasil dari maserasi kemudian dipekatkan dengan water bath pada suhu 60° C dengan tujuan untuk menguapkan metanol yang masih ada dalam maserat.

Ekstrak kental daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang diperoleh yaitu dengan persen rendemen sebesar 10%.

Ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah dipekatkan kemudian di fraksinasi menggunakan pelarut campuran metanol:air (1:1) dan dipartisi dengan pelarut Etil Asetat menggunakan corong pisah. Hasil partisi yaitu didapat 2 fase, dimana fase yang berada dibagian bawah merupakan fraksi campuran metanol-air dan fraksi Etil Asetat berada dibagian atas. Hal tersebut terjadi karena berat jenis pelarut Etil Asetat lebih kecil dibandingkan berat jenis air. Fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah didapat ditampung pada suatu wadah tertutup.

Hasil fraksinasi yang telah ditampung dipekatkan di atas waterbath dengan suhu $>50^{\circ}\text{C}$ hingga didapatkan ekstrak pekat fraksi Etil Asetat yang diperoleh persen rendemen sebesar 22,05%.

5.3 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Skrining fitokimia atau identifikasi kualitatif pada fraksi Etil Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) bertujuan untuk memastikan adanya zat aktif dalam sampel sehingga mempermudah proses pengujian aktivitas antioksidan. Hasil dari skrining fitokimia fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol**Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)**

Senyawa	Pereaksi	Pustaka	Hasil	Ket
Flavonoid	Sampel 1 mg + Metanol 4 mL → Dipanaskan → Filtrat + H ₂ SO ₄	Terjadi perubahan warna (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → Hijau Kehitaman	+
Fenolik	Sampel 1 mg + 2 tetes FeCl ₃ 1%	Terjadi perubahan warna (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → Hitam	+
Alkaloid	Sampel 2 mL + mayer	Terjadi endapan (Akasia, <i>et al</i> , 2021)	Hijau → Keruh dan terdapat endapan	+
Saponin	Sampel 1 mg + Akuades 5 mL + 1 tetes HCl	Terjadi pembentukan busa (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → Busa selama 20 detik	+

Keterangan : + = Mengandung zat aktif

- = Tidak mengandung zat aktif

Dari data hasil skrining fitokimia yang terdapat pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin.

5.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan

5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang

Sebelum dilakukan optimasi waktu dan pengujian aktivitas antioksidan terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal. Pada proses penentuan panjang gelombang, blanko yang digunakan yaitu metanol p.a sebanyak 2 mL dan larutan DPPH sebanyak 2

mL yang diperoleh absorbansi 0,673 pada panjang gelombang 515nm (Lampiran 5).

5.4.2 Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH

Pengujian ini dilakukan dengan cara mereaksikan DPPH sebanyak 4 mL. Hasil dari pengukuran absorbansi untuk optimasi waktu inkubasi yaitu 0,647 hasil dari DPPH untuk blanko ekstrak daun Afrika dan 0,638 untuk blanko kuersetin (Lampiran 6).

5.4.3 Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Proses optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet larutan ekstrak sebanyak 0,5 mL dari berbagai konsentrasi larutan uji ekstrak (3,13, 12,50, 28,13, 50, dan 78,13 ppm) kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang 515 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 10 menit.

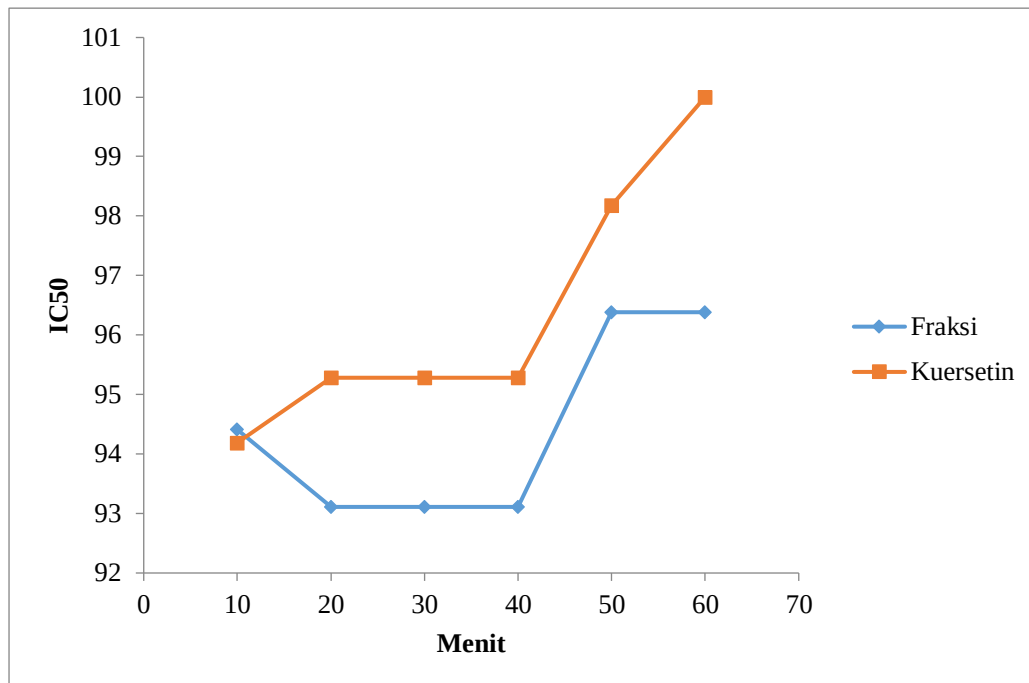
Proses optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet larutan kuersetin sebanyak 0,5 mL dari berbagai konsentrasi larutan uji ekstrak (0,63, 2,50, 5,63, 10, dan 15,63 ppm) kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang 515 nm yang dimulai dari menit 10 hingga menit 60 dengan selang waktu 10 menit.

Tabel 5.2. Nilai Absorbansi pada Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
DPPH			0,647	DPPH			0,638
Ekstra k Daun Afrika	10	3,13	0,363	Kuerse tin	10	0,63	0,385
		12,50	0,341			2,50	0,351
		28,13	0,332			5,63	0,336
		50	0,325			10	0,311
		78,13	0,306			15,63	0,291
	20	3,13	0,358		20	0,63	0,369
		12,50	0,336			2,50	0,335
		28,13	0,327			5,63	0,321
		50	0,320			10	0,310
		78,13	0,300			15,63	0,299
	30	3,13	0,356		30	0,63	0,351
		12,50	0,334			2,50	0,334
		28,13	0,325			5,63	0,326
		50	0,318			10	0,312
		78,13	0,300			15,63	0,299
	40	3,13	0,342		40	0,63	0,346
		12,50	0,325			2,50	0,334
		28,13	0,317			5,63	0,324
		50	0,306			10	0,313
		78,13	0,300			15,63	0,300
	50	3,13	0,340		50	0,63	0,338
		12,50	0,325			2,50	0,331
		28,13	0,321			5,63	0,321
		50	0,317			10	0,313
		78,13	0,311			15,63	0,311
	60	3,13	0,341		60	0,63	0,343
		12,50	0,337			2,50	0,341
		28,13	0,326			5,63	0,324
		50	0,316			10	0,321
		78,13	0,312			15,63	0,319

Tabel 5.2 menunjukkan hasil absorbansi dari ekstrak daun Afrika dan kuersetin. Nilai absorbansi yang telah didapat selanjutnya dihitung persen inhibisi dan dilanjutkan untuk penentuan nilai IC₅₀.

Grafik 5.1. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin



Gambar 5.1. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Gambar 5.1 menunjukkan bahwa optimasi ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan kuersetin optimal pada menit 40. Hal ini disebabkan karena nilai IC₅₀ pada optimasi ekstrak dan kuersetin menghasilkan nilai IC₅₀ terkecil.

5.4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan konsentrasi 3,13, 12,50, 28,13, 50, dan 78,13 ppm menggunakan 3 replikasi dari masing-masing konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm.

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dengan konsentrasi 0,63, 2,50, 5,63, 10, dan 15,63 ppm menggunakan 3 replikasi dari masing-masing konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Hasil pengukuran absorbansi yang didapat dari hasil penelitian menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari nilai absorbansi yang telah didapat selanjutnya dilakukan perhitungan persen inhibisi yang mendapatkan hasil seperti di Tabel 5.5.

Tabel 5.4. Inhibisi (%) Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Rep	% Inhibisi Konsentrasi (ppm)				
	3,13	12,50	28,13	50	78,13
1	46,52	47,76	49,61	50,70	53,01
2	46,99	48,07	49,92	51,01	52,86
3	47,91	49,37	49,61	50,70	52,40

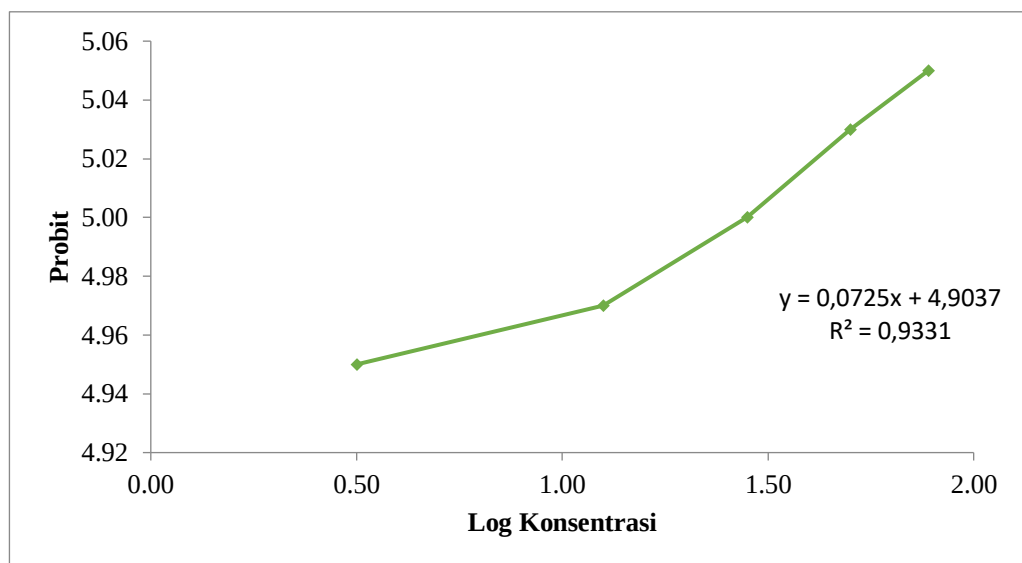
Dari data dalam Tabel 5.4 diperoleh nilai persen inhibisi dari beberapa konsentrasi. Data persen inhibisi yang didapat selanjutnya diplotkan dengan tabel probit (Finney, 1971) supaya didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} , dengan cara memasukkan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y yang diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga diperoleh persamaan regresi. Grafik korelasi log konsentrasi fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan probit dapat dilihat pada Gambar 5.1.

Tabel 5.5. Inhibisi (%) Kuersetin Terhadap DPPH

Rep	% Inhibisi Konsentrasi (ppm)				
	0,63	2,50	5,63	10	15,63
1	44,04	47,96	49,84	50,94	52,66
2	44,67	49,37	50,31	51,10	52,35
3	44,20	48,59	50,00	51,88	52,04

Dari data dalam Tabel 5.5. diperoleh nilai persen inhibisi dari beberapa konsentrasi. Data persen inhibisi yang didapat selanjutnya diplotkan dengan tabel probit (Finney, 1971) supaya didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} , dengan cara memasukkan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y yang diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga diperoleh persamaan regresi. Grafik korelasi log konsentrasi fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan probit dapat dilihat pada Gambar 5.2.

Gambar 5.2. Grafik Kurva Korelasi Log Konsentrasi oleh Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan Probit



Gambar 5.2. Hubungan Log Konsentrasi dan Probit Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Dari grafik pada gambar 5.2 diperoleh persamaan regresi linear $y = 4,904 + 0,073x$ dengan koefisien korelasi (r) 0,933. Nilai r yang diperoleh dapat diartikan bahwa data probit fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia*

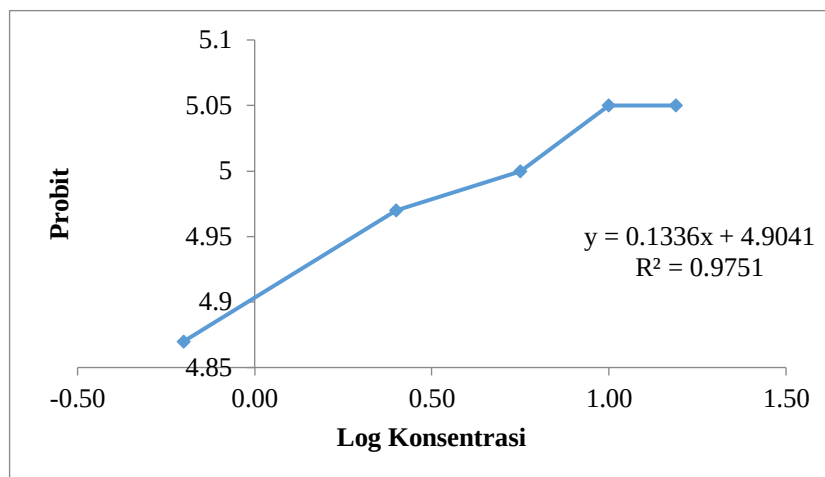
amygdalina Del.) baik. Menurut Rizkayanti, dkk, (2017), jika dalam suatu grafik hasil perhitungan mempunyai nilai r mendekati 1 atau sama dengan 1, maka data hasil penelitian yang diperoleh sangat baik. Nilai IC_{50} fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang diperoleh dari hasil perhitungan akhir dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 5.6. Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC_{50} $\pm$ SD	RSD
22,909	22,909	13,646	$19,821 \pm 5,348$	0,270 %

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 5.6, dapat diketahui bahwa fraksi Etil Asetat ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai nilai rata-rata sebesar $19,821 \pm 5,348$ ppm (Lampiran 9). Nilai yang diperoleh dapat diartikan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas daun Afrika dengan menggunakan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) termasuk dalam golongan sedang. Nilai RSD yang didapat dari pengujian ekstrak yaitu 0,270 % yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al*, 2016).

Gambar 5.3. Grafik Kurva Korelasi Log Konsentrasi oleh Kuersetin dengan Probit



Gambar 5.3. Hubungan Log Konsentrasi dan Probit Kuersetin

Dari grafik pada gambar 5.3 diperoleh persamaan regresi linear $y = 4,904 + 0,134x$ dengan koefisien korelasi (r) 0,975. Nilai r yang diperoleh dapat diartikan bahwa data probit fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) kurang baik karena nilai r kuersetin lebih kecil daripada nilai r ekstrak. Menurut Rizkayanti, dkk, (2017), jika dalam suatu grafik hasil perhitungan mempunyai nilai r mendekati 1 atau sama dengan 1, maka data hasil penelitian yang diperoleh sangat baik. Nilai IC_{50} kuersetin yang diperoleh dari hasil perhitungan akhir dapat dilihat pada Tabel 5.8.

Tabel 5.7. Nilai IC_{50} Kuersetin

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC_{50} $\pm$ SD	RSD
5,521	5,702	1,450	4,224 $\pm$ 2,404	0,569 %

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 5.7, dapat diketahui bahwa Kuersetin sebagai pembanding termasuk antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia*

amygdalina Del.) yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini, hal ini bisa dibuktikan dari nilai IC_{50} kuersetin yang diperoleh dari hasil penelitian ini yaitu $4,224 \pm 2,404$ ppm. Nilai RSD yang didapat pada pengujian kuersetin yaitu 0,569 % yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al*, 2016).

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dan mendapatkan hasil bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina*).

6.2 Pembuatan Simplisia

6.2.1 Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini menggunakan sampel tanaman daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang didapatkan dari daerah Madura. Sampel yang digunakan adalah daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) berwarna hijau segar pada helai ke lima dari pucuk serta diambil pada saat fotosintesis 10.00 agar diperoleh zat yang maksimal (Kusumawati, et al, 2018).

6.2.2 Pengolahan Sampel

Sebanyak 1000 gram tanaman daun Afrika dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor di daun yang dapat mengganggu proses ekstraksi (sortasi basah), kemudian ditiriskan lalu dilap menggunakan tisu dapur. Proses selanjutnya yaitu pengeringan daun Afrika yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel serta untuk menghindari proses pertumbuhan mikroba pada sampel dengan cara diangin-anginkan dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan sinar matahari yang dilakukan pemasangan paranit di atas terlebih dahulu agar cahaya matahari tersaring. Hal

ini dilakukan agar tidak terjadi kerusakan pada daun. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah benar-benar kering hingga berubah warna menjadi berwarna hijau kecoklatan, lalu sampel dipisahkan dari sisa-sisa kotoran yang tersisa (sortasi kering), lalu di blender hingga menghasilkan serbuk kasar simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebanyak 250 gram.

6.3 Proses Ekstraksi Maserasi dan Fraksinasi

6.3.1 Ekstraksi Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu maserasi dengan menggunakan metanol. Pemilihan pelarut metanol pada proses ekstraksi ini dikarenakan pelarut metanol merupakan pelarut yang dapat menarik komponen bioaktif polar, semi polar, dan non polar sehingga ekstraksi menggunakan pelarut metanol dapat menghasilkan nilai rendemen yang tinggi. Proses maserasi dilakukan dengan cara melakukan perendaman serbuk kasar simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan pelarut metanol di dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama 3 hari dengan pengadukan sehari sekali di jam yang sama hingga semua bagian simplisia tercampur secara merata dan dapat melarut dalam cairan pelarut. Campuran ini kemudian disaring menggunakan kertas saring. Maserator yang didapat selanjutnya dilakukan proses remaserasi selama 1 kali 24 jam yang bertujuan supaya senyawa yang masih tertinggal didalam maserator tertarik ke dalam cairan pelarut (Ramadhani, *et al*, 2020). Hasil dari maserasi disaring

dan dilanjutkan dengan proses penguapan menggunakan waterbath pada suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$ yang bertujuan untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut. Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan perhitungan persen rendemen. Penentuan nilai persen rendemen bertujuan untuk mengetahui perbandingan hasil ekstrak terhadap simplisia yang dihasilkan. Ekstrak kental daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang diperoleh sebanyak 20 gram dari 200 gram simplisia daun Afrika (rendemen 10%). Rendemen adalah suatu nilai berat ekstrak kental yang didapat dibandingkan dengan berat simplisia yang digunakan (Fatoni, 2019). Nilai rendemen juga dapat menunjukkan kandungan komponen bioaktif dalam ekstrak (Arina, 2019).

6.3.2 Ekstraksi Fraksinasi

Hasil dari ekstrak metanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah dipekatkan, kemudian di fraksinasi menggunakan pelarut campuran metanol:air (1:1) dan dipartisi dengan pelarut Etil Asetat menggunakan corong pisah. Hasil partisi yaitu didapat 2 fase, dimana fase yang berada dibagian bawah merupakan fraksi campuran metanol-air dan fraksi Etil Asetat berada dibagian atas. Hal tersebut terjadi karena berat jenis pelarut Etil Asetat lebih kecil dibandingkan berat jenis air. Fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah didapat ditampung pada suatu wadah tertutup. Hasil fraksinasi yang telah ditampung dipekatkan di atas waterbath dengan suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$ hingga didapatkan ekstrak pekat fraksi Etil Asetat (rendemen 22,05%). Pemilihan pelarut Etil Asetat dalam proses fraksinasi ini didasarkan pada teori *like dissolve like* dimana kelarutan dalam suatu zat hanya akan larut

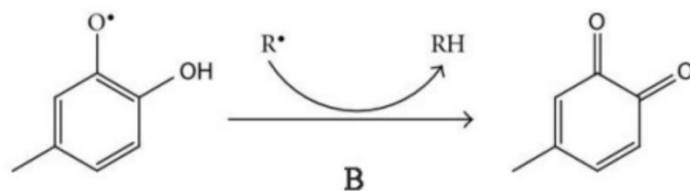
dalam pelarut yang sejenis. Dapat diartikan, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, dan zat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Pelarut Etil Asetat memiliki sifat semi polar sehingga diyakini dapat menarik senyawa flavonoid fenolik bentuk aglikon yang terdapat di dalam daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

6.4 Identifikasi Kualitatif Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Skrining fitokimia atau identifikasi kualitatif pada fraksi Etil Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) bertujuan untuk memastikan adanya zat aktif dalam sampel sehingga mempermudah proses pengujian aktivitas antioksidan. Dari data hasil skrining fitokimia yang diperoleh dapat menunjukkan bahwa fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin.

6.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan hasil metabolit sekunder yang mempunyai fungsi sebagai pereduksi radikal bebas (Kurang & Adang, 2018), atau dapat disebut juga dengan antioksidan alami (Fatimah & Sundu, 2020). Hasil dari penelitian ini yaitu terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi karena terdapat pembentukan senyawa flavonoid (pembentukan garam flavilium) akibat dari penambahan H_2SO_4 pada sampel yang telah dipanaskan menggunakan metanol. Proses pemanasan menggunakan pelarut metanol yaitu karena flavonoid terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida yang bersifat polar (mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula) sehingga flavonoid dapat tertarik dalam pelarut metanol yang bersifat polar (Forestryana & Arnida, 2020). Sifat antioksidan dari flavonoid yaitu berasal dari kemampuannya untuk mentransfer elektron ke senyawa radikal bebas sehingga menimbulkan efek menekan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas (Gambar 6.1) (Yuhernita & Juniarti, 2011)



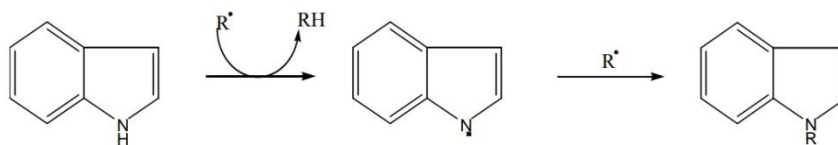
Gambar 6.1 Peredaman Radikal Bebas Oleh Flavonoid (Yuhernita & Juniarti, 2011)

6.4.2 Fenolik

Senyawa fenolik adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang berfungsi biologis seperti antioksidan dan antiseptik. Hasil dari penelitian ini yaitu terjadi perubahan warna menjadi kehitaman. Perubahan warna terjadi karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis, dimana gugus tersebut terdapat pada senyawa fenol (Akasia, *et al*, 2021).

6.4.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Senyawa alkaloid pada umumnya juga mengandung atom yang mengandung oksigen. Alkaloid juga merupakan salah satu senyawa pahit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian alkaloid pada penelitian ini dilakukan menggunakan pereaksi pengendapan yaitu pereaksi Meyer yang memiliki kandungan kalium iodide dan merkuri klorida untuk memisahkan jenis alkaloid. Hasil pengujian ini yaitu terbentuk endapan. Endapan dihasilkan karena Meyer merupakan kompleks kalium-alkaloid, sedangkan alkaloid memiliki kandungan atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas dan akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari pereaksi Meyer sehingga akan terbentuk endapan (Akasia, *et al*, 2021). Senyawa alkaloid terutama indol mempunyai kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal yang merupakan turunan dari senyawa amina ini mempunyai tahap terminasi yang sangat lama (Gambar 6.2) (Yuhernita & Juniarti, 2011).



Gambar 6.2 Peredaman Radikal Bebas Oleh Alkaloid (Yuhernita & Juniarti, 2011)

Senyawa-senyawa alkaloid lain ada yang bersifat antioksidan yaitu quinolon, melatonin yang mempunyai peran penting dalam menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan, dan kafein yang berfungsi sebagai peredam radikal hidroksil (Yuhernita & Juniarti, 2011). Namun pada penelitian ini belum dapat diketahui jenis alkaloid apa yang memiliki peran dalam bioaktivitas antioksidan pada fraksi Etil Asetat daun Afrika.

6.4.4 Saponin

Saponin adalah suatu senyawa bioaktif yang termasuk golongan senyawa glikosida. Hasil dari penelitian ini yaitu terjadi pembentukan buih yang tetap stabil dalam waktu 20 detik setelah ditambahkan 1 tetes HCl. Hal ini terjadi karena saponin dapat membentuk suatu larutan koloidal dalam air dan dapat menghasilkan buih jika dilakukan pengocokan pada larutan (Akasia, *et al*, 2021).

6.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Proses penetapan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode DPPH adalah suatu metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan karena mudah, cepat, sederhana, peka, dan memerlukan sedikit sampel (Lung & Destiani, 2017). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil sehingga jika digunakan untuk pereaksi pada penangkapan radikal bebas cukup dengan cara dilarutkan dan disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. DPPH mempunyai panjang gelombang maksimum antara 515-520 nm (Tristantini *et al*, 2016).

6.5.1 Penentuan Panjang Gelombang

Sebelum dilakukan optimasi waktu dan pengujian aktivitas antioksidan terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal. Pada proses penentuan panjang gelombang, blanko yang digunakan yaitu metanol p.a sebanyak 2 mL dan larutan DPPH sebanyak 2 mL yang diperoleh absorbansi 0,673 pada panjang gelombang 515 nm. Hasil panjang gelombang yang didapat pada penelitian ini memiliki hasil yang berbeda dengan teori yang digunakan yaitu dengan panjang gelombang 517 nm. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan pelarut yang digunakan dan penggunaan alat yang berbeda (Yunita & Khodijah, 2020 ; Kurniawati & Riandini, 2019). Batas toleransi yang diperbolehkan yaitu kurang lebih 3 nm (Nasution *et al*, 2020).

6.5.2 Pengukuran Absorbansi Senyawa DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilakukan pada panjang gelombang 515 nm dikarenakan hasil dari penelitian panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan yaitu 515 nm. Hasil dari pengukuran absorbansi (blanko) adalah 0,647 untuk DPPH (Ekstrak) dan 0,638 untuk DPPH (Kuersetin). Hasil absorbansi DPPH berbeda bisa disebabkan oleh faktor cahaya, karena DPPH tidak stabil dalam cahaya namun stabil dalam suhu ruang. Cara mengatasinya yaitu dengan cara diletakkan di tempat yang kurang cahaya atau gelap.

6.5.3 Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Proses optimasi waktu inkubasi yaitu dilakukan dengan cara mereaksikan larutan ekstrak sebanyak 0,5 mL dari berbagai konsentrasi larutan uji ekstrak (3,13, 12,50, 28,13, 50, dan 78,13 ppm) dan kuersetin (0,63, 2,50, 5,63, 10, dan 15,63 ppm) kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Nilai absorbansi diamati pada panjang gelombang 515 nm yang dimulai dari menit 10 hingga menit 60 dengan selang waktu 10 menit. Pada optimasi waktu inkubasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan salah satu konsentrasi dalam proses analisisnya yaitu konsentrasi 78,13 ppm pada fraksi dan 15,63 ppm pada kuersetin. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi tersebut menghasilkan nilai IC_{50} terkecil (terbaik). Hasil dari proses optimasi waktu inkubasi menunjukkan bahwa pada penelitian ini aktivitas antioksidan yang optimal pada fraksi dan kuersetin yaitu pada menit 40. Hal ini disebabkan

karena nilai IC_{50} pada optimasi fraksi dan kuersetin menghasilkan nilai IC_{50} terkecil yang sesuai dengan penelitian (Zuraida, *et al*, 2017) yang menyatakan bahwa semakin kecil nilai IC_{50} , maka aktivitas antioksidan di dalam sampel semakin kuat.

6.5.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Kuersetin

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan konsentrasi (3,13, 12,50, 28,13, 50, dan 78,13 ppm) dan kuersetin dengan konsentrasi (0,63, 2,50, 5,63, 10, dan 15,63 ppm) menggunakan 3 replikasi dari masing-masing konsentrasi yang diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm pada menit 40. Tahap selanjutnya yaitu dilakukan pengukuran absorbansi. Data absorbansi yang telah diperoleh dari sampel ekstrak dan kuersetin digunakan untuk menghitung persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Tahap selanjutnya yaitu menghitung log konsentrasi dan memplotkan hasil persen inhibisi ke tabel probit (Finney, 1971) untuk mengetahui nilai probit. Data log konsentrasi dan nilai probit kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC_{50}) dilakukan dengan cara memasukkan nilai $y = 5$ yang merupakan harga probit dari 50% pada persamaan regresi linier.

Pada pengujian daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) diperoleh hasil perhitungan persen inhibisi pada konsentrasi 3,13 ppm diperoleh nilai persen inhibisi sebesar 46,52%, 12,50 ppm sebesar 47,76%, 28,13 ppm sebesar

49,61%, 50 ppm sebesar 50,70%, dan 78,13 ppm sebesar 53,01%. Data persen inhibisi yang didapat selanjutnya diplotkan dengan tabel probit (Finney, 1971) supaya didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} , dengan cara memasukkan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y yang diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga diperoleh persamaan regresi : $Y = a + bX$. Dari hasil persamaan regresi yang diperoleh, nilai X dapat ditentukan setelah mengganti nilai $Y = 5$ yang merupakan harga probit dari 50%. Nilai IC_{50} dapat ditentukan dengan menggunakan rumus $IC_{50} = \text{Antilog } X$. Hasil perhitungan yang didapat yaitu dengan rata-rata 19,821 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat yang artinya senyawa antioksidan yang terkandung di dalam daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) baik dalam menghambat kerja radikal bebas DPPH, dalam konsentrasi kecil daun afrika sudah dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas dalam DPPH. Hal ini dapat terjadi karena terdapat kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Di dukung dengan penelitian (Hadriyono, *et al*, 2011) yang menyatakan bahwa kandungan fenolik total pada buah manggis memiliki korelasi yang sangat kuat terhadap aktivitas antioksidan dengan nilai korelasi 84%.

Pada penelitian (Febrianti, *et al*, 2017) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol daun Afrika dengan nilai IC_{50} 175,021 $\mu\text{g/mL}$ pada panjang gelombang 517 nm. Perbedaan hasil dari nilai IC_{50} dapat disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut dan lama ekstraksi (Handayani, *et al*, 2016). Hal ini juga didukung dengan penelitian (Utomo, *et al*, 2020) yang

menyatakan bahwa pengaruh suhu juga berpengaruh terhadap kadar aktivitas antioksidan di dalam tanaman, dimana semakin tinggi cekaman suhu yang terdapat dalam lingkungan maka kadar aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin tinggi. Sehingga nilai IC_{50} pada penelitian ini mendapatkan nilai lebih kecil (baik) dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan (Febrianti, *et al*, 2017). Hal ini dikarenakan pada penelitian ini menggunakan sampel yang diambil di Madura, dimana suhu di Madura lebih tinggi yaitu berkisar antara 22,5 – 37°C (Miranti, *et al*, 2015). Sedangkan di suhu di Samarinda yaitu 26,2°C (Firdaus, *et al*, 2017)

Pada penelitian ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding yang bertujuan untuk mengetahui bahwa metode yang digunakan telah benar. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Ipandi, *et al*, 2016). Pada penelitian uji aktivitas antioksidan pada kuersetin diperoleh hasil perhitungan persen inhibisi pada konsentrasi 0,63 ppm diperoleh nilai persen inhibisi sebesar 44,20%, 2,50 ppm sebesar 48,59%, 5,63 ppm sebesar 50,00%, 10 ppm sebesar 51,88%, dan 15,63 ppm sebesar 52,04%. Data persen inhibisi yang didapat selanjutnya diplotkan dengan tabel probit (Finney, 1971) supaya didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} , dengan cara memasukkan log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y yang diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga diperoleh persamaan regresi : $Y = a + bX$. Dari hasil persamaan regresi yang diperoleh, nilai X dapat ditentukan

setelah mengganti nilai $Y = 5$ yang merupakan harga probit dari 50%. Nilai IC_{50} dapat ditentukan dengan menggunakan rumus $IC_{50} = \text{Antilog } X$. Hasil perhitungan yang didapat yaitu $4,224 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat.

Kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi daripada ekstrak. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak masih dalam bentuk senyawa kompleks (tidak murni) sedangkan kuersetin merupakan suatu senyawa yang murni (Handayani, *et al*, 2020).

Nilai RSD yang di dapat pada fraksi Etil Asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) $0,270 \%$ dan kuersetin $0,569 \%$. Menurut (Pratiwi, *et al*, 2016), nilai RSD yang baik yaitu lebih kecil dari 16% . Sehingga nilai RSD fraksi Etil Asetat daun Afrika dan kuersetin tergolong baik. Namun jika dibandingkan, nilai RSD kuersetin lebih baik daripada nilai RSD fraksi Etil Asetat daun Afrika.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa kimia yang terdapat di dalam fraksi Etil Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yaitu flavonoid, alkaloid, fenol, dan saponin.
2. Nilai aktivitas antioksidan IC₅₀ pada fraksi Etil Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang diuji menggunakan metode DPPH yaitu 19,821 µg/mL yang tergolong antioksidan sangat kuat. Hal ini disebabkan karena daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan metode lain.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menggunakan pelarut lain.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina*) pada bagian lain tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Admassu, S., & Kebede, M. (2019). Application Of Antioxidants In Food Processing Industry: Options To Improve The Extraction Yields And Market Value Of Natural Products. *Adv Food Tech Nutr Sci*, 5(2), 38-49.
- Akasia, A. I., Putra, I. D. N. N., & Putra, I. N. G. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora Mucronata* Dan *Rhizophora Apiculata* Yang Dikoleksi Dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16-22.
- Anam, C., & Agustini, T. W. (2014). Pengaruh Pelarut Yang Berbeda Pada Ekstraksi *Spirulina Platensis* Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), 106-112.
- Anggraini, D. (2013). Analisis Zr Dalam Paduan UZR (6%) Melalui Pengukuran Senyawa Zr-Arsenazo Iii Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Urania Jurnal Ilmiah Daur Bahan Bakar Nuklir*, 18(2).
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- Astuti, S. (2012). Isoflavon Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 126-136.
- Azizah, Z., Zulharmita, Z., & Zulfian, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Vitamin C Ekstrak Buah Naga Merah Keunguan (*Hylocereus Lemairei* (Hook.) Britton & Rose) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(1), 41-47.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility Of Antioxidant Assays In Food Science And Safety—Chemistry, Applications, Strengths, And Limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
- Dewi, A. P. (2018). Penetapan Kadar Vitamin C dengan Spektrofotometri UV-Vis Pada Berbagai Variasi Buah Tomat. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 2(1), 9-13.
- Due, Y. P., Bukit, M., & Johannes, A. Z. (2019). Kajian Awal Spektrum Serapan Uv– Vis Senyawa Hasil Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Asal Tarus Kabupaten Kupang. *Jurnal Fisika: Fisika Sains dan Aplikasinya*, 4(1), 40-47.
- Dyera Forestryana, A. (2020). Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2).

- Farombi, E. O., & Owoeye, O. (2011). Antioxidative And Chemopreventive Properties Of Vernonia Amygdalina And Garcinia Biflavonoid. *International journal of environmental research and public health*, 8(6), 2533-2555.
- Fathurahman, M. (2019). Pemodelan Indeks Pembangunan Kesehatan Masyarakat Kabupaten/Kota Di Pulau Kalimantan Menggunakan Pendekatan Regresi Probit. *Jurnal Varian*, 2(2), 47-54.
- Fatimah, N., & Sundu, R. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Daun Afrika (Vernonia Amygdalina Del.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 5(2), 250-257.
- Febrianti, P., Prabowo, W. C., & Rijai, L. (2017, May). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 5, pp. 196-204).
- Firdausi, I., Retnowati, R., & Sutrisno, S. (2015). Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (Mangifera casturi Kosterm) dengan Pelarut n-butanol. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), pp-785.
- Hadriyono, KRP (2011). Karakter Kulit Manggis, Kadar Polifenol Dan Potensi Antioksidan Kulit Manggis (Garcinia Mangostana L.) Pada Berbagai Umur Buah Dan Setelah Buah Dipanen.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., & Yunianta, Y. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut Dan Lama Ekstraksi)[In Press Januari 2016]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1).
- Handayani, S., Kurniawati, I., & Rasyid, F. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (Ficus Elastica) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 6(1), 141-150.
- Hani, R. C., & Milanda, T. (2016). Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *Farmaka*, 14(1), 184-190.
- Hidayati, I., Andiarna, F., & Agustina, E. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39-50.
- Huang, T., & Xu, X. H. N. (2010). Synthesis And Characterization Of Tunable Rainbow Colored Colloidal Silver Nanoparticles Using Single-Nanoparticle Plasmonic Microscopy And Spectroscopy. *Journal of materials chemistry*, 20(44), 9867-9876.
- Huliselan, Y. M. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Dari Daun Sesewanua (Clerodendron Squamatum Vahl.). *Pharmacon*, 4(3), 155-163.

- Ijeh, I. I., & Ejike, C. E. (2011). Current Perspectives On The Medicinal Potentials Of *Vernonia Amygdalina* Del. *Journal of medicinal plants research*, 5(7), 1051-1061.
- Ikrom, I., TR, D. A., & Wasito, W. The in Vitro Study: Anti *Aeromonas Hydrophila* of Ethanol Extract of Kamboja Leaves (*Plumeria Alba*). *Indonesian Journal of Veterinary Science*, 32(1), 140074.
- Ipand, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 93-100.
- Juniarti Departemen Biokimia, F. K. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Journal of Science*.
- Khaira, K. (2016). Menangkal Radikal Bebas Dengan Anti-Oksidan. *Sainstek: Jurnal Sains dan Teknologi*, 2(2), 183-187.
- Kharimah, N. Z., Lukmayani, Y., & Syafnir, L. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).
- Kurniawati, E., & Riandini, H. M. (2019). Analisis Kadar Vitamin C Pada Daging Buah Kelengkeng (*Dimocarpus longan* L) Segar dan Daging Buah Kelengkeng Kaleng Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah: J-HESTECH*, 2(2), 119-126.
- Kusumawati, S. A., Dwiranti, A., & Salamah, A. (2018). Pengamatan Fase Mitosis *Hibiscus Rosa-Sinensis* L. Variasi Double Red Pada Beberapa Waktu Pengambilan Pucuk Daun. *Proceeding of Biology Education*, 2(1), 9-17.
- Labola, Y. A., & Puspita, D. (2018). Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Majalah Farmasetika*, 2(2), 12-17.
- Lisi, A. K. (2017). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Bunga Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.). *Pharmacon*, 6(1).
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62.
- Mahardika, R. G., Roanisca, O., & Sari, F. I. P. (2020). Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Pelawan (*Tristanopsis merguensis* Griff.). *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 3(1), 8-14.
- MATOA, A. A. E. D., Suryani, N. C., Permana, D. G. M., & Jambe, A. A. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan.
- Miranti, A. K., Rukmi, M. I., & Supriyadi, A. (2015). Diversitas Kapang Serasah Daun Talok (*Muntingia calabura* L.) Di Kawasan Desa Sukolilo Barat,

- Kecamatan Labang, Kabupaten Bangkalan, Madura. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 16(2), 58-64.
- Pamolango, S. A. (2016). Uji Fitokimia, Antioksidan, Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Kentang (*Solanum tuberosum*) Dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *PHARMACON*, 5(3).
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods For Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Fraksi Etil Asetat, Dan Fraksi N-Heksan Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 71-82.
- Puspa, O. E., Syahbanu, I., & Wibowo, M. A. (2017). Uji Fitokimia Dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica Fragans* Houtt) Dari Pulau Lemukutan. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(2).
- Putri, M. A. (2018). Peningkatan Antioksidan Endogen yang Dipicu Latihan Fisik. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 26(3), 163-172.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 56-60.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1).
- Rizkayanti, R., Diah, AWM, & Jura, MR (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6 (2), 125-131.
- Santo, A., Zhu, H., & Li, Y. R. (2016). Free Radicals: From Health To Disease. *React. Oxyg. Species*, 2, 245-263.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). *Antioxidant Compounds And Their Antioxidant Mechanism* (pp. 1-28). London, UK: IntechOpen.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R., & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan Flavonoid Dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.]. *Pharmacon*, 2(1).
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Menggunakan Metode

- DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89.
- Setiawati, A. (2014). Aktivitas Antikanker Ekstrak Kering Kulit Manggis Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Melalui Reseptor Estrogen-A. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 25 (3), 119.
- Soehendro, A. W., Manuhara, G. J., Nurhartadi, E., Ilmu, J., & Pertanian, F. (2015). Pengaruh suhu terhadap aktivitas antioksidan dan antimikrobia ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan pelarut etanol dan air. *Jurnal Teknosains Pangan*, 4(4).
- Souhoka, F. A., Hattu, N., & Huliselan, M. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa Orellana* L). *Indonesian Journal of Chemical Research*, 7(1), 25-31.
- Sugiyono. (2017). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung, Alfabeta
- Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.
- Sumartini, S., & Ratrinia, P. W. (2021). Pengaruh Antioksidan Daun Mangrove Terhadap Hasil Pengujian Hedonik Dan Fat Bloom Pada Coklat Batang Selama Masa Simpan. *Aurelia Journal*, 3(1), 47-57.
- Suputri, Y. D., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (*Zea mays* L.). *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 20-24.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). In *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan* (p. 1).
- Utomo, D. S., Kristiani, E. B. E., & Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 143-149.
- 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), 213-222.
- Warono, D., & Ab, S. (2013). Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Jurnal Konversi*, 2(1).
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68.

- Wientarsih, I., Sjarif, S. H., & Hamzah, I. M. (2013). Aktivitas Antioksidan Fraksi Metanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 1-8.
- Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia* (Pharmaceutical Journal of Indonesia), 17(2), 273-280.
- Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. (2016). Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Anti Oksidan. *Cermin Dunia Kedokteran*, 43(10), 733-736.
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 2(1), 9-17.
- Zuraida, Z., Sulistiyani, S., Sajuthi, D., & Suparto, I. H. (2017). Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R. Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(3), 211-219.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUR-064
 Revisi : 0



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

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

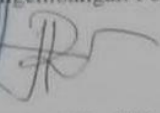
No. 060/PL.17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No:
 444/F/K/81 DS/UEH/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil
 pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT Pengembangan Pertanian
 Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama	Dhea Melani
NIM	18040025
Jur. Fak. PT	Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae, Divisio: Spermatophyta, Sub Divisio: Magnoliophyta, Kelas:
Magnoliopsida, Sub Kelas: Asteridae, Ordo: Asterales, Famili: Asteraceae, Genus: Vernonia,
Spesies: Vernonia amygdalina, Del

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.


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



Jember, 11 April 2022
 UPT Pengembangan Pertanian Terpadu

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

Pengeringan Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)



Hasil Maserasi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)



Penguapan Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)



Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)



Proses Fraksinasi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*
Del.)



Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)



Proses Optimasi Waktu Inkubasi



Proses Pengujian



Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Rendemen Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{20 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 10\%$$

Rendemen Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika}}{\text{Bobot Ekstrak Metanol Daun Afrika}} \times 100\%$$

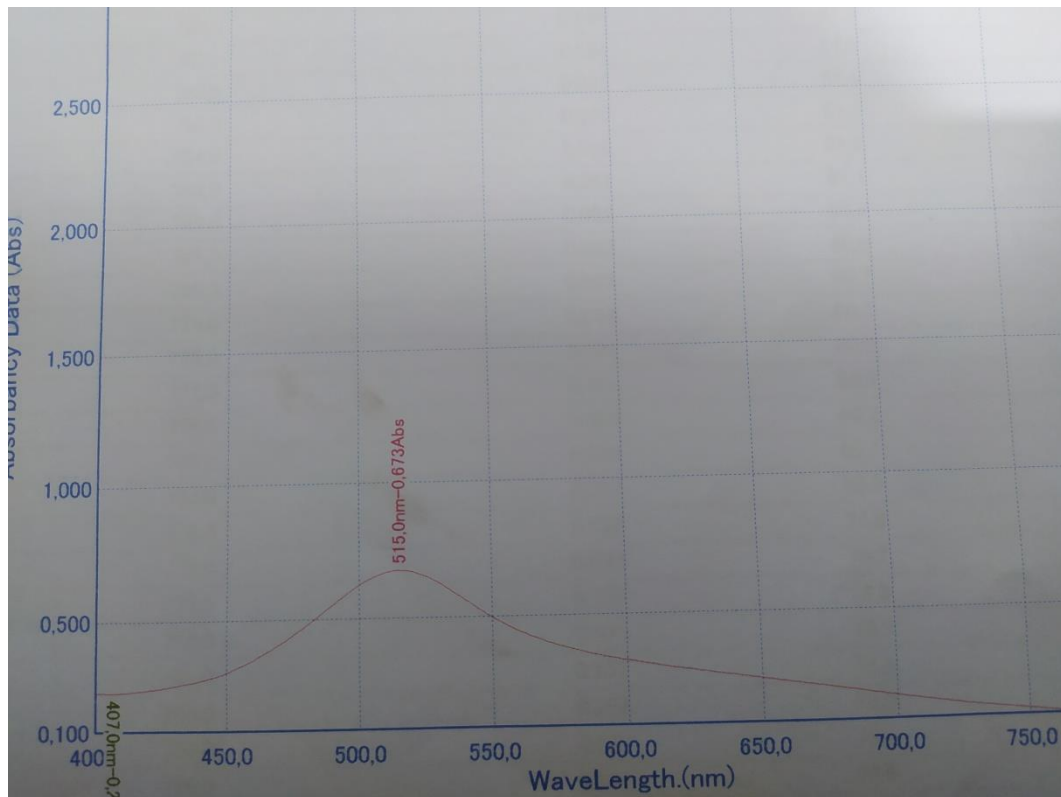
$$\text{Rendemen} = \frac{4,41 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 22,05\%$$

Lampiran 4. Identifikasi Senyawa Kimia (Skrining Fitokimia)

No	Senyawa	Pereaksi	Hasil
1.	Flavonoid 	Sampel 1 mg + Metanol 4 mL → Dipanaskan → Filtrat + H ₂ SO ₄	Hijau kehitaman

2.	Fenolik 	Sampel 1 mg + 2 tetes FeCl_3 1%	Hitam
3.	Alkaloid 	Sampel 2 mL + Mayer	Keruh dan terdapat endapan
4.	Saponin 	Sampel 1 mg + Akuades 5 mL + 1 tetes HCl	Terdapat buih/ busa

Lampiran 5. Grafik Panjang Gelombang



(Panjang gelombang DPPH dengann konsentrasi 50 PPM)

Lampiran 6. Perhitungan DPPH dan Hasil Absorbansi

Penimbangan DPPH

$$1,25 \text{ mg dilarutkan pada } 25 \text{ mL metanol p.a} = \frac{1,25 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL/L}}{25 \text{ mL}}$$

$$= 50 \text{ ppm}$$

Hasil Absorbansi DPPH (Blanko Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika)

Test Record List.					
No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,647	22,6	30/06/2022 9:55:20	blanko

Hasil Absorbansi DPPH (Blanko Kuersetin)

Test Record List.					
No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,638	23,0	22/06/2022 12:30:15	Blanko

Lampiran 7. Perhitungan Larutan dan Hasil Absorbansi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika dan Kuersetin

Perhitungan Sampel Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika

Larutan induk : 25 mg ekstrak dilarutkan dalam 25 mL metanol p.a

$$= \frac{25 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL/L}}{25 \text{ mL}}$$

$$= 1000 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{100 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{150 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,75 \text{ mL}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{200 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{250 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1,25 \text{ mL}$$

Data absorbansi ekstrak yang dihasilkan Spektrofotometer UV-Vis

Test Record List.					
No.	WL(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,346	45,1	30/06/2022 11:13:18	50 PPM MENIT 40 R1
2	515,0	0,343	45,4	30/06/2022 11:13:39	50 PPM MENIT 40 R2
3	515,0	0,337	46,0	30/06/2022 11:14:03	50 PPM MENIT 40 R3
4	515,0	0,338	46,0	30/06/2022 11:14:41	100 PPM MENIT 40 R1
5	515,0	0,336	46,1	30/06/2022 11:15:05	100 PPM MENIT 40 R2
6	515,0	0,323	47,8	30/06/2022 11:15:31	100 PPM MENIT 40 R3
7	515,0	0,286	51,7	30/06/2022 11:15:56	150 PPM MENIT 40 R1
8	515,0	0,326	47,2	30/06/2022 11:16:23	150 PPM MENIT 40 R1
9	515,0	0,281	52,3	30/06/2022 11:16:45	150 PPM MENIT 40 R2
10	515,0	0,324	47,4	30/06/2022 11:17:11	150 PPM MENIT 40 R2
11	515,0	0,326	47,2	30/06/2022 11:17:39	150 PPM MENIT 40 R3
12	515,0	0,319	48,0	30/06/2022 11:18:04	200 PPM MENIT 40 R1
13	515,0	0,317	48,2	30/06/2022 11:18:27	200 PPM MENIT 40 R2
14	515,0	0,319	48,0	30/06/2022 11:18:54	200 PPM MENIT 40 R3
15	515,0	0,304	49,7	30/06/2022 11:19:20	250 PPM MENIT 40 R1
16	515,0	-0,003	100,8	30/06/2022 11:19:50	
17	515,0	0,305	49,5	30/06/2022 11:20:17	250 PPM MENIT 40 R2
18	515,0	0,308	49,2	30/06/2022 11:20:44	250 PPM MENIT 40 R3

Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Dalam Labu Takar 5 mL

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 2,5 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,5 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 10 \text{ ppm}$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{0,75 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 22,5 \text{ ppm}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 40 \text{ ppm}$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{1,25 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 62,5 \text{ ppm}$$

Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Dalam Kuvet

$$50 \text{ ppm} = \frac{2,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 3,13 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 12,50 \text{ ppm}$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{22,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 28,13 \text{ ppm}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 50 \text{ ppm}$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{62,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 78,13 \text{ ppm}$$

Perhitungan Sampel Kuersetin

Larutan induk : 2 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a

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

$$= 200 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 0,75 \text{ mL}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1,25 \text{ mL}$$

Data absorbansi kuersetin yang dihasilkan Spektrofotometer UV-Vis

Test Record List.					
No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,638	23,0	22/06/2022 12:30:15	Blangko
2	515,0	0,357	44,0	22/06/2022 11:16:11	10 PPM 40 MENIT R1
3	515,0	0,353	46,4	22/06/2022 11:17:01	10 PPM 40 MENIT R2
4	515,0	0,356	44,1	22/06/2022 11:17:55	10 PPM 40 MENIT R3
5	515,0	0,332	45,4	22/06/2022 11:30:52	20 PPM 40 MENIT R1
6	515,0	0,323	45,2	22/06/2022 11:31:11	20 PPM 40 MENIT R2
7	515,0	0,350	44,7	22/06/2022 11:32:32	20 PPM 40 MENIT R3
8	515,0	0,328	45,6	22/06/2022 11:33:20	20 PPM 40 MENIT R3
9	515,0	0,341	45,6	22/06/2022 11:43:37	30 PPM 40 MENIT R1
10	515,0	0,320	46,4	22/06/2022 11:43:57	30 PPM 40 MENIT R1
11	515,0	0,342	45,5	22/06/2022 11:44:19	30 PPM 40 MENIT R2
12	515,0	0,317	46,8	22/06/2022 11:44:55	30 PPM 40 MENIT R2
13	515,0	0,319	46,7	22/06/2022 11:45:13	30 PPM 40 MENIT R3
14	515,0	0,313	48,9	22/06/2022 12:07:35	40 PPM 40 MENIT R1
15	515,0	0,312	49,2	22/06/2022 12:07:55	40 PPM 40 MENIT R2
16	515,0	0,307	48,8	22/06/2022 12:08:13	40 PPM 40 MENIT R3
17	515,0	0,314	49,8	22/06/2022 12:17:46	50 PPM 40 MENIT R1
18	515,0	0,302	51,0	22/06/2022 12:18:08	50 PPM 40 MENIT R1
19	515,0	0,304	51,1	22/06/2022 12:18:39	50 PPM 40 MENIT R2
20	515,0	0,310	49,9	22/06/2022 12:19:17	50 PPM 40 MENIT R3
21	515,0	0,306	50,6	22/06/2022 12:19:58	50 PPM 40 MENIT R3

Perhitungan Konsentrasi Kuersetin Dalam Labu Takar 5 mL

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,25 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 0,5 \text{ ppm}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,5 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 2 \text{ ppm}$$

$$30 \text{ ppm} = \frac{0,75 \text{ mL} \times 30 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 4,5 \text{ ppm}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mL} \times 40 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 8 \text{ ppm}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{1,25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{5 \text{ mL}} = 12,5 \text{ ppm}$$

Perhitungan Konsentrasi Kuersetin Dalam Kuvet

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm} &= \frac{0,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 0,63 \text{ ppm} \\
 20 \text{ ppm} &= \frac{2 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 2,50 \text{ ppm} \\
 30 \text{ ppm} &= \frac{4,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 5,63 \text{ ppm} \\
 40 \text{ ppm} &= \frac{8 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 10 \text{ ppm} \\
 50 \text{ ppm} &= \frac{12,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} = 15,63 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan % Inhibisi

Optimasi Waktu Inkubasi

Perhitungan % Inhibisi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika

Optimasi Waktu Inkubasi Fraksi Etil Asetat Daun Afrika			
Menit	KONSENTRASI	Abs	% Inhibisi
BLANKO		0,647	0
10	3,13 PPM	0,363	43,90
	12,50 PPM	0,341	47,30
	28,13 PPM	0,332	48,69
	50 PPM	0,325	49,77
	78,13 PPM	0,306	52,71
20	3,13 PPM	0,358	44,67
	12,50 PPM	0,336	48,07
	28,13 PPM	0,327	49,46
	50 PPM	0,320	50,54
	78,13 PPM	0,300	53,63
30	3,13 PPM	0,356	44,98
	12,50 PPM	0,334	48,38
	28,13 PPM	0,325	49,77
	50 PPM	0,318	50,85
	78,13 PPM	0,300	53,63
40	3,13 PPM	0,342	47,14
	12,50 PPM	0,325	49,77

	28,13 PPM	0,317	51,01
	50 PPM	0,306	52,71
	78,13 PPM	0,300	53,79
50	3,13 PPM	0,340	47,45
	12,50 PPM	0,325	49,77
	28,13 PPM	0,321	50,39
	50 PPM	0,317	51,01
	78,13 PPM	0,311	51,93
60	3,13 PPM	0,341	47,30
	12,50 PPM	0,337	47,91
	28,13 PPM	0,326	49,61
	50 PPM	0,316	51,16
	78,13 PPM	0,312	51,78

Perhitungan % Inhibisi Kuersetin

Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin			
REPLIKASI	KONSENTRASI	Abs	% Inhibisi
BLANKO		0,638	0
Menit 10	0,63 PPM	0,385	39,66
	2,50 PPM	0,351	44,98
	5,63 PPM	0,336	47,34
	10 PPM	0,311	51,25
	15,63 PPM	0,291	54,39
Menit 20	0,63 PPM	0,369	42,16
	2,50 PPM	0,335	47,49
	5,63 PPM	0,321	49,69
	10 PPM	0,310	51,41
	15,63 PPM	0,299	53,14
Menit 30	0,63 PPM	0,351	44,98
	2,50 PPM	0,334	47,65
	5,63 PPM	0,326	48,90
	10 PPM	0,312	51,10
	15,63 PPM	0,299	53,14
Menit 40	0,63 PPM	0,346	45,77
	2,50 PPM	0,334	47,65
	5,63 PPM	0,324	49,22
	10 PPM	0,313	50,94
	15,63 PPM	0,300	52,98
Menit 50	0,63 PPM	0,338	47,02
	2,50 PPM	0,331	48,12
	5,63 PPM	0,321	49,69

Menit 60	10 PPM	0,313	50,94
	15,63 PPM	0,311	51,25
	0,63 PPM	0,343	46,24
	2,50 PPM	0,341	46,55
	5,63 PPM	0,324	49,22
	10 PPM	0,321	49,69
	15,63 PPM	0,319	50,00

Pengujian

Perhitungan % Inhibisi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika

Replikasi 1

$$3,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,346)}{0,647} \times 100\% = 46,52\%$$

$$12,50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,338)}{0,647} \times 100\% = 47,76\%$$

$$28,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,326)}{0,647} \times 100\% = 49,61\%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,319)}{0,647} \times 100\% = 50,70\%$$

$$78,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,304)}{0,647} \times 100\% = 53,01\%$$

Replikasi 2

$$3,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,343)}{0,647} \times 100\% = 46,99\%$$

$$12,50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,336)}{0,647} \times 100\% = 48,07\%$$

$$28,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,324)}{0,647} \times 100\% = 49,92\%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,317)}{0,647} \times 100\% = 51,01\%$$

$$78,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,305)}{0,647} \times 100\% = 52,86\%$$

Replikasi 3

$$3,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,337)}{0,647} \times 100\% = 47,91\%$$

$$12,50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,323)}{0,647} \times 100\% = 49,37\%$$

$$28,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,326)}{0,647} \times 100\% = 49,61\%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,319)}{0,647} \times 100\% = 50,70\%$$

$$78,13 \text{ ppm} = \frac{(0,647 - 0,308)}{0,647} \times 100\% = 52,40\%$$

Perhitungan % Inhibisi Pengujian Kuersetin

Replikasi 1

$$0,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,357)}{0,638} \times 100\% = 44,04\%$$

$$2,50 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,332)}{0,638} \times 100\% = 47,96\%$$

$$5,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,320)}{0,638} \times 100\% = 49,84\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,313)}{0,638} \times 100\% = 50,94\%$$

$$15,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,302)}{0,638} \times 100\% = 52,66\%$$

Replikasi 2

$$0,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,353)}{0,638} \times 100\% = 44,67\%$$

$$2,50 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,323)}{0,638} \times 100\% = 49,37\%$$

$$5,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,317)}{0,638} \times 100\% = 50,31\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,312)}{0,638} \times 100\% = 51,10\%$$

$$15,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,304)}{0,638} \times 100\% = 52,35\%$$

Replikasi 3

$$0,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,356)}{0,638} \times 100\% = 44,20\%$$

$$2,50 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,328)}{0,638} \times 100\% = 48,59\%$$

$$5,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,319)}{0,638} \times 100\% = 50,00\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,307)}{0,638} \times 100\% = 51,88\%$$

$$15,63 \text{ ppm} = \frac{(0,638 - 0,306)}{0,638} \times 100\% = 52,04\%$$

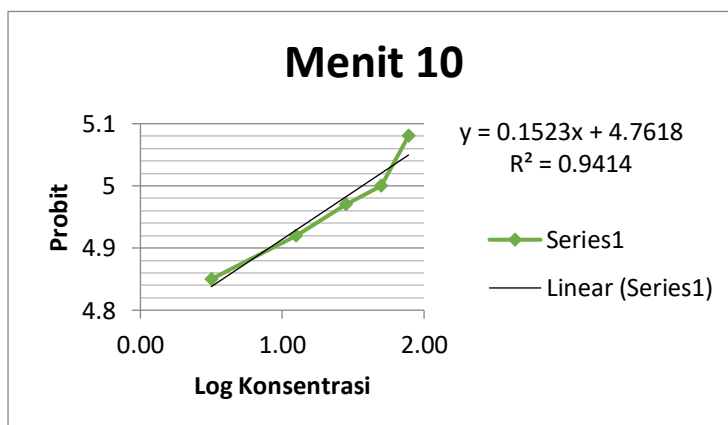
Lampiran 9. Perhitungan IC₅₀

Perhitungan IC₅₀ Optimasi Waktu Inkubasi

Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika

Optimasi Ekstrak				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
10	3,13	0,50	43,9	4,85
	12,50	1,10	47,3	4,92
	28,13	1,45	48,69	4,97
	50	1,70	49,77	5
	78,13	1,89	52,71	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,85
1,10	4,92
1,45	4,97
1,70	5
1,89	5,08



$$a = 4,762$$

$$b = 0,152$$

$$r = 0,941$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,762 + 0,152x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,762 + 0,152x$

$$x = 1,566$$

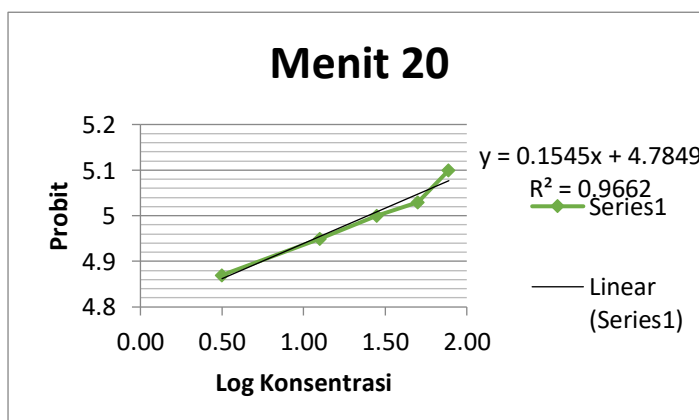
IC50= Antilog x

= Antilog 1,566

= 36,813 (Sangat Kuat)

Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
20	3,13	0,50	44,67	4,87
	12,50	1,10	48,07	4,95
	28,13	1,45	49,46	5
	50	1,70	50,54	5,03
	78,13	1,89	53,63	5,1

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,87
1,10	4,95
1,45	5
1,70	5,03
1,89	5,1



$$a = 4,785$$

$$b = 0,155$$

$$r = 0,966$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,785 + 0,155x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,785 + 0,155x$

$$x = 1,387$$

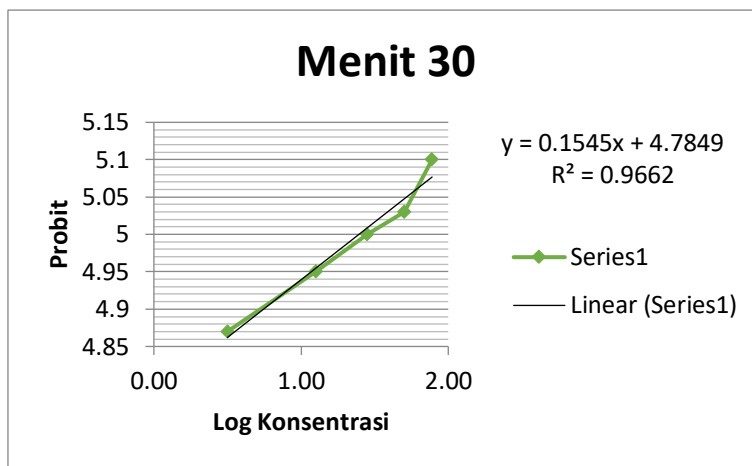
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 1,387$$

$$= 24,378(\text{Sedang})$$

Optimasi Ekstrak				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
30	3,13	0,50	44,98	4,87
	12,50	1,10	48,38	4,95
	28,13	1,45	49,77	5
	50	1,70	50,85	5,03
	78,13	1,89	53,63	5,1

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,87
1,10	4,95
1,45	5
1,70	5,03
1,89	5,1



$$a = 4,785$$

$$b = 0,155$$

$$r = 0,966$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,785 + 0,155x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,785 + 0,155x$

$$x = 1,566$$

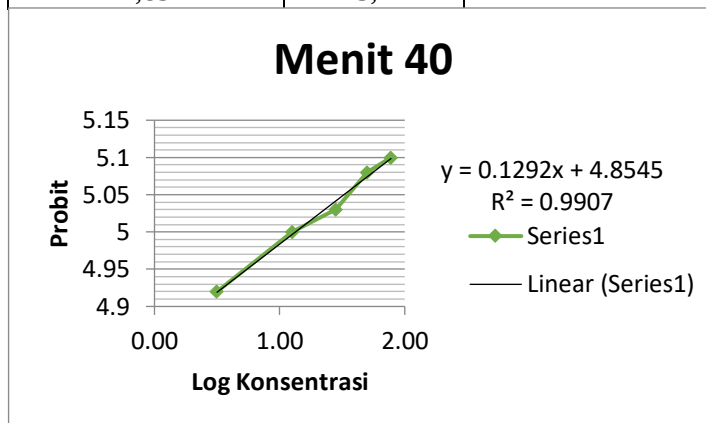
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 1,566$$

$$= 36,813(\text{Sangat Kuat})$$

Optimasi Ekstrak				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
40	3,13	0,50	47,14	4,92
	12,50	1,10	49,77	5
	28,13	1,45	51,01	5,03
	50	1,70	52,71	5,08
	78,13	1,89	53,79	5,1

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,92
1,10	5
1,45	5,03
1,70	5,08
1,89	5,1



$$a = 4,855$$

$$b = 0,129$$

$$r = 0,991$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,855 + 0,129x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,855 + 0,129x$

$$x = 1,124$$

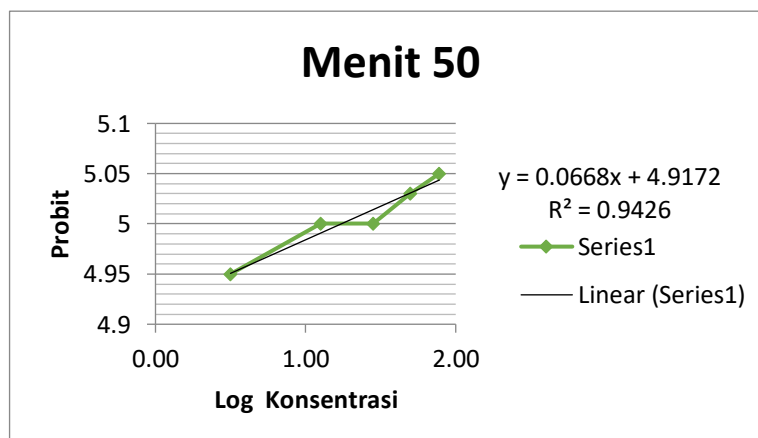
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 1,124$$

= 13,305(Sedang)

Optimasi Ekstrak				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	% Inhibisi	Probit
50	3,13	0,50	47,45	4,95
	12,50	1,10	49,77	5
	28,13	1,45	50,39	5
	50	1,70	51,01	5,03
	78,13	1,89	51,93	5,05

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,95
1,10	5
1,45	5
1,70	5,03
1,89	5,05



$a = 4,917$

$b = 0,067$

$r = 0,943$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,917 + 0,067x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,917 + 0,067x$

$$x = 1,239$$

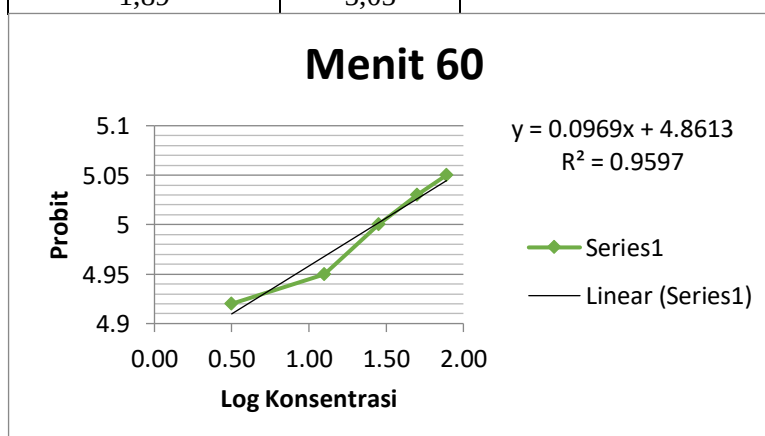
IC50= Antilog x

= Antilog 1,239

= 17,338(Sangat Kuat)

Optimasi Ekstrak				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
60	3,13	0,50	47,3	4,92
	12,50	1,10	47,91	4,95
	28,13	1,45	49,77	5
	50	1,70	51,16	5,03
	78,13	1,89	51,78	5,05

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,92
1,10	4,95
1,45	5
1,70	5,03
1,89	5,05



$$a = 4,861$$

$$b = 0,097$$

$$r = 0,960$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,861 + 0,097x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,861 + 0,097x$

$$x = 1,433$$

IC50= Antilog x

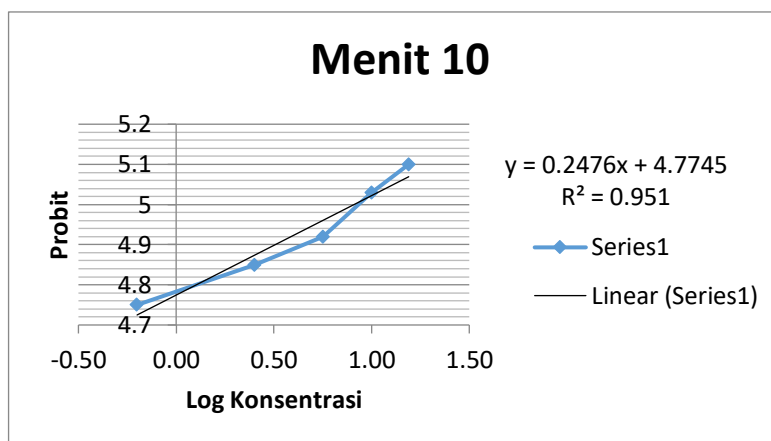
$$= \text{Antilog } 1,433$$

$$= 27,102 \text{ (Sangat Kuat)}$$

Kuersetin

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	% Inhibisi	Probit
10	0,63	-0,20	39,66	4,75
	2,5	0,40	44,98	4,85
	5,63	0,75	47,34	4,92
	10	1,00	51,25	5,03
	15,63	1,19	54,39	5,1

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,75
0,40	4,85
0,75	4,92
1,00	5,03
1,19	5,1



$$a = 4,775$$

$$b = 0,248$$

$$r = 0,951$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,775 + 0,248x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,775 + 0,248x$

$$x = 0,907$$

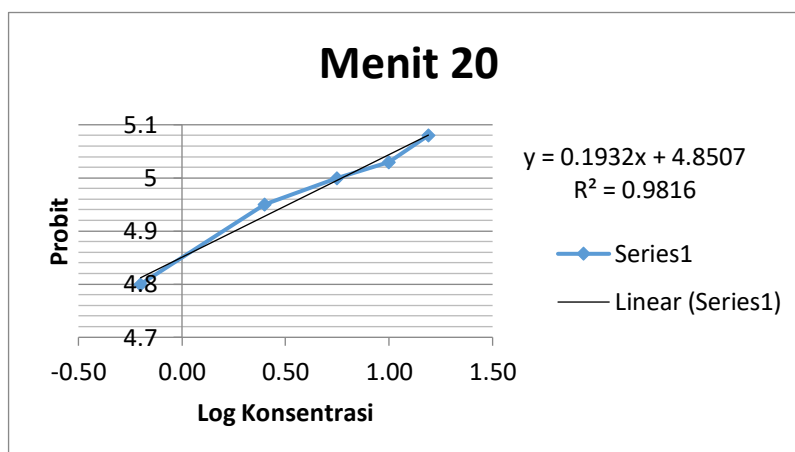
IC₅₀= Antilog x

= Antilog 0,907

= 8,072 (Sangat Kuat)

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
20	0,63	-0,20	42,16	4,8
	2,5	0,40	47,49	4,95
	5,63	0,75	49,69	5
	10	1,00	51,41	5,03
	15,63	1,19	53,14	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,8
0,40	4,95
0,75	5
1,00	5,03
1,19	5,08



a = 4,851

b = 0,193

r = 0,982

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,851 + 0,193x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,851 + 0,193x$

$$x = 0,772$$

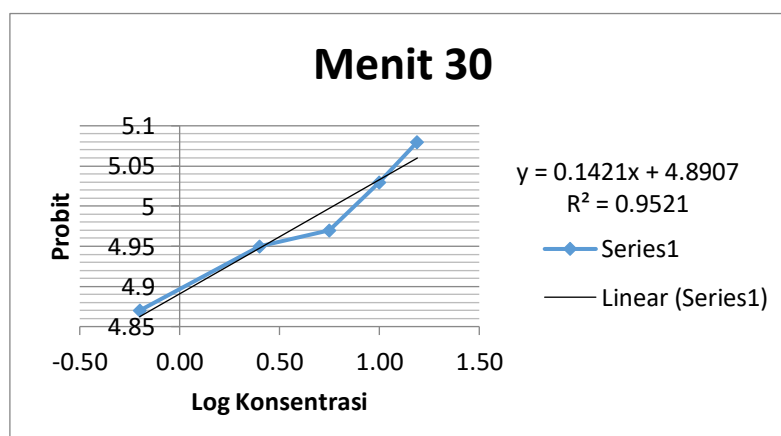
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 0,772$$

$$= 5,916 \text{ (Sangat Kuat)}$$

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	% Inhibisi	Probit
30	0,63	-0,20	44,98	4,87
	2,5	0,40	47,65	4,95
	5,63	0,75	48,9	4,97
	10	1,00	51,1	5,03
	15,63	1,19	53,14	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,87
0,40	4,95
0,75	4,97
1,00	5,03
1,19	5,08



$$a = 4,891$$

$$b = 0,142$$

$$r = 0,952$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,891 + 0,142x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,891 + 0,142x$

$$x = 0,768$$

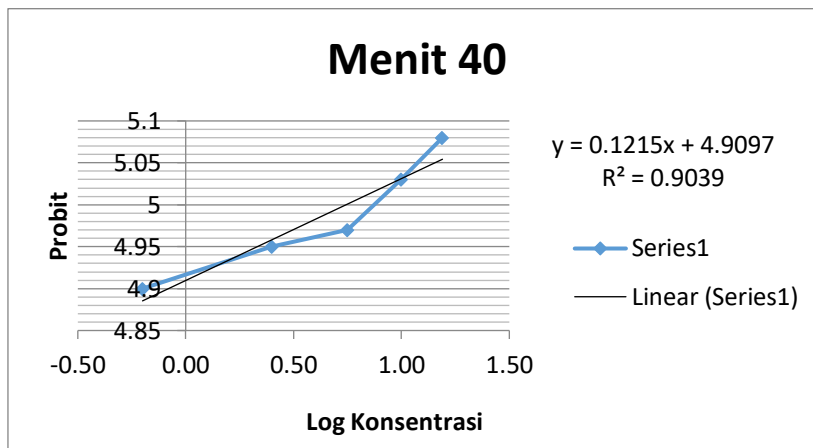
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 0,768$$

$$= 5,861 \text{ (Sangat Kuat)}$$

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
40	0,63	-0,20	45,77	4,9
	2,5	0,40	47,65	4,95
	5,63	0,75	49,22	4,97
	10	1,00	51,1	5,03
	15,63	1,19	52,98	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,9
0,40	4,95
0,75	4,97
1,00	5,03
1,19	5,08



$$a = 4,910$$

$$b = 0,122$$

$$r = 0,904$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,910 + 0,122x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,910 + 0,122x$

$$x = 0,738$$

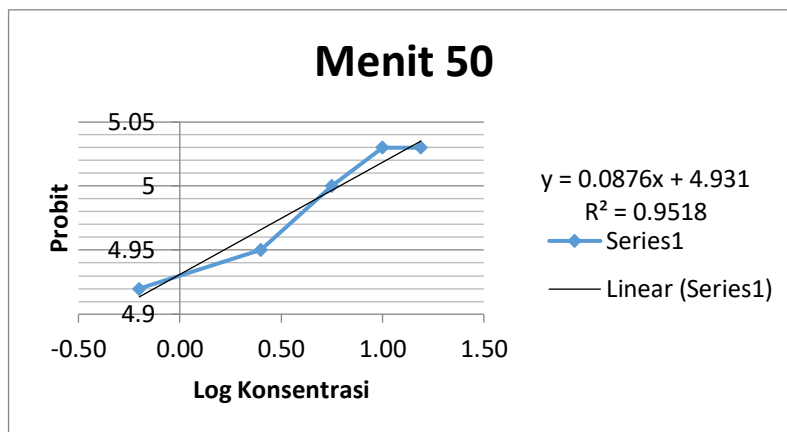
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 0,738$$

$$= 5,470(\text{Sangat Kuat})$$

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
50	0,63	-0,20	47,02	4,92
	2,5	0,40	48,12	4,95
	5,63	0,75	49,69	5
	10	1,00	50,94	5,03
	15,63	1,19	51,25	5,03

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,92
0,40	4,95
0,75	5
1,00	5,03
1,19	5,03



$$a = 4,931$$

$$b = 0,088$$

$$r = 0,952$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,931 + 0,088x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,931 + 0,088x$

$$x = 0,784$$

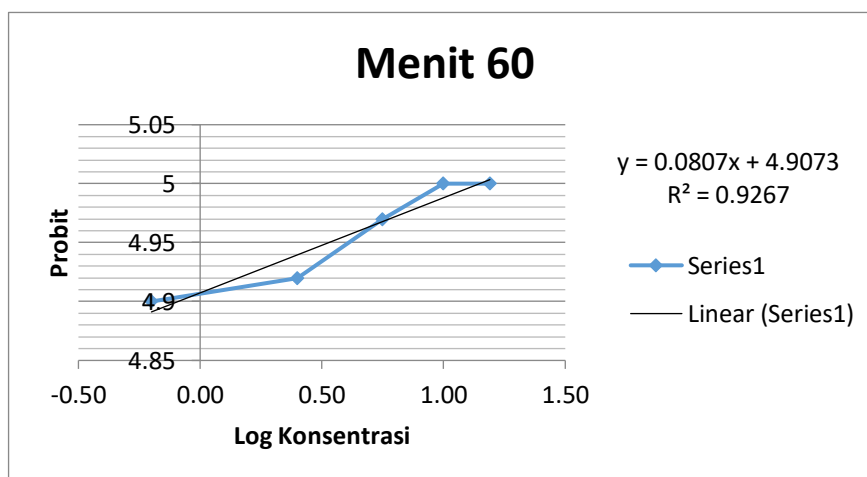
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 0,784$$

= 6,081(Sangat Kuat)

Optimasi Kuersetin				
Menit	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
60	0,63	-0,20	46,24	4,9
	2,5	0,40	46,55	4,92
	5,63	0,75	49,22	4,97
	10	1,00	49,69	5
	15,63	1,19	50,00	5

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,9
0,40	4,92
0,75	4,97
1,00	5
1,19	5



$$a = 4,907$$

$$b = 0,081$$

$$r = 0,927$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,907 + 0,081x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,907 + 0,081x$

$$x = 1,148$$

IC₅₀ = Antilog x

= Antilog 1,148

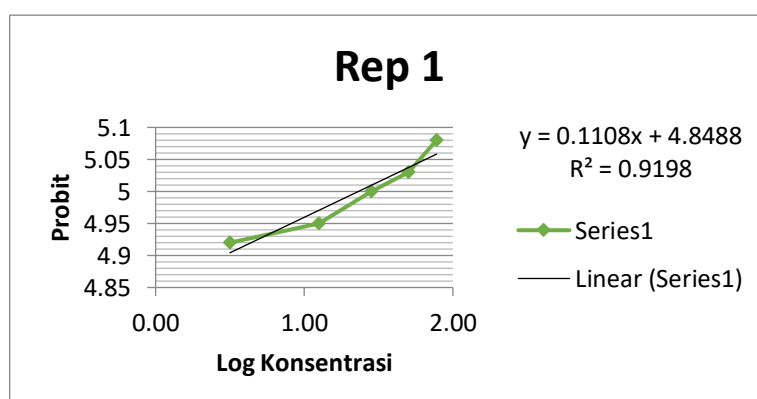
= 14,061 (Sangat Kuat)

Perhitungan IC₅₀ Pengujian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Afrika dan Kuersetin

Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Afrika

Fraksi Etil asetat Daun Afrika				
Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
1	3,13	0,50	46,52	4,92
	12,50	1,10	47,76	4,95
	28,13	1,45	49,61	5
	50	1,70	50,7	5,03
	78,13	1,89	53,01	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,92
1,10	4,95
1,45	5
1,70	5,03
1,89	5,08



$$a = 4,849$$

$$b = 0,111$$

$$r = 0,920$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,849 + 0,111x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,849 + 0,111x$

$$x = 1,360$$

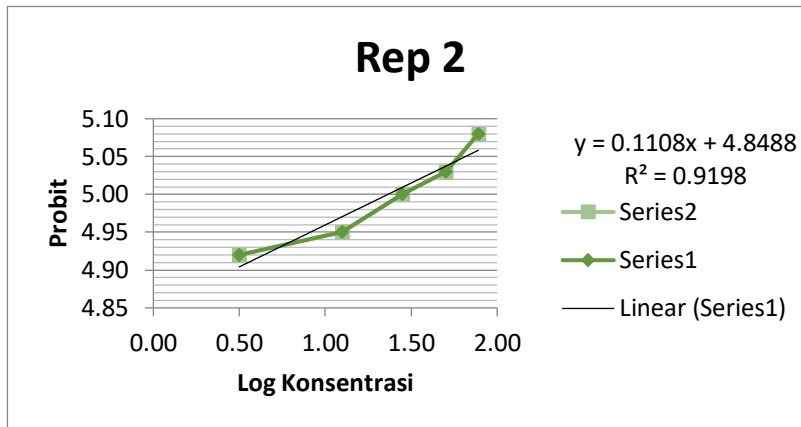
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 1,360$$

$$= 22,909(\text{Sangat Kuat})$$

Fraksi Etil asetat Daun Afrika				
Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
2	3,13	0,50	46,99	4,92
	12,50	1,10	48,07	4,95
	28,13	1,45	49,92	5,00
	50	1,70	51,01	5,03
	78,13	1,89	52,86	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,92
1,10	4,95
1,45	5,00
1,70	5,03
1,89	5,08



$$a = 4,849$$

$$b = 0,111$$

$$r = 0,920$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,849 + 0,111x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,849 + 0,111x$

$$x = 1,360$$

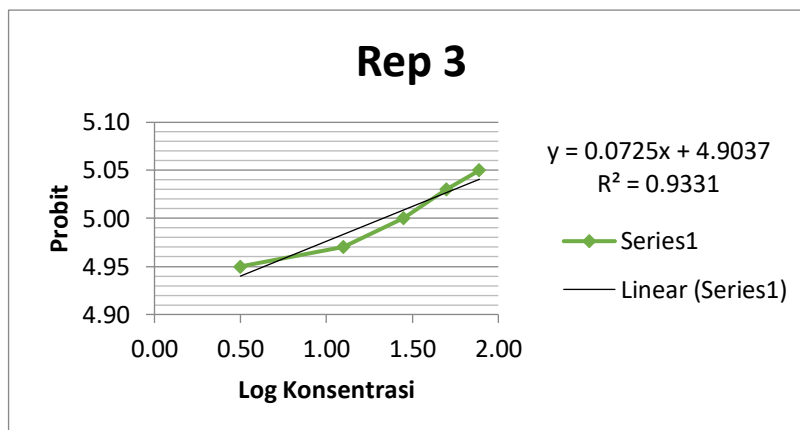
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 1,360$$

$$= 22,909(\text{Sangat Kuat})$$

Fraksi Etil asetat Daun Afrika				
Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
3	3,13	0,50	47,91	4,95
	12,50	1,10	49,37	4,97
	28,13	1,45	49,61	5,00
	50	1,70	50,7	5,03
	78,13	1,89	52,4	5,05

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0,50	4,95
1,10	4,97
1,45	5,00
1,70	5,03
1,89	5,05



$$a = 4,904$$

$$b = 0,073$$

$$r = 0,933$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,904 + 0,073x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,904 + 0,073x$

$$x = 1,315$$

IC50= Antilog x

= Antilog 1,135

= 13,646 (Sangat Kuat)

Fraksi Etil Asetat Daun Afrika					
Replikasi	IC50 (µg/mL)	Kategori	SD	$\bar{x}$ (µg/mL)	$\bar{x} \pm SD$
I	22,909	Sangat Kuat	5,348	19,821	19,821 ± 5,348
II	22,909	Sangat Kuat			
III	13,646	Sangat Kuat			

X	x	$(X - x)$	$(X - x)^2$
22,909	19,821	3,088	9,536
22,909		3,088	9,536
13,646		-6,175	38,131
		Jumlah	57,203

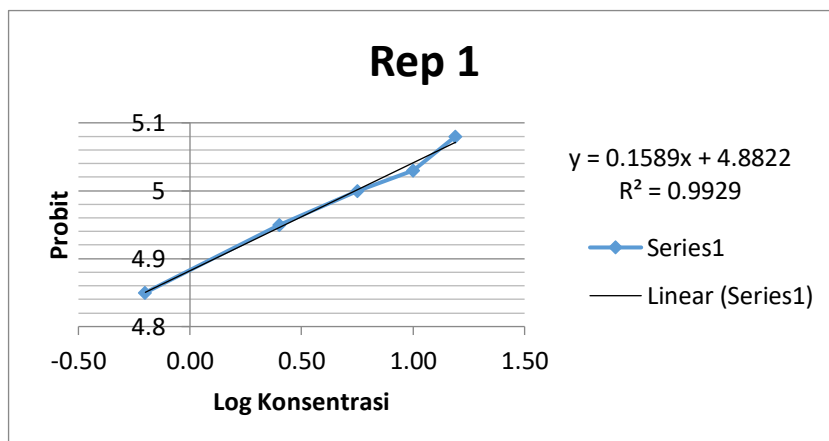
$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{\sum (X-x)^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{57,203}{3-1}} \\
 &= \sqrt{28,602} \\
 &= 5,348
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 RSD &= \frac{SD}{Rata-rata (x)} \times 100\% \\
 &= \frac{5,348}{19,821} \times 100\% \\
 &= 0,270 \% \text{ (Baik karena kurang dari 16\%)}
 \end{aligned}$$

Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
1	0,63	-0,20	44,04	4,85
	2,5	0,40	47,96	4,95
	5,63	0,75	49,84	5
	10	1,00	50,94	5,03
	15,63	1,19	52,66	5,08

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,85
0,40	4,95
0,75	5
1,00	5,03
1,19	5,08



$$a = 4,882$$

$$b = 0,159$$

$$r = 0,993$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,882 + 0,159x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,882 + 0,159x$

$$x = 0,742$$

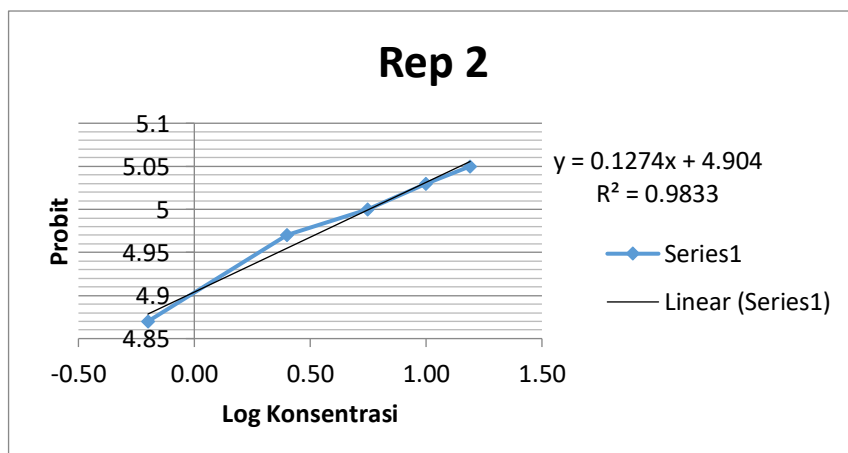
IC50= Antilog x

= Antilog 0,742

= 5,521 (Sangat Kuat)

Kuersetin				
Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
2	0,63	-0,20	44,67	4,87
	2,5	0,40	49,37	4,97
	5,63	0,75	50,31	5
	10	1,00	51,1	5,03
	15,63	1,19	52,35	5,05

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,87
0,40	4,97
0,75	5
1,00	5,03
1,19	5,05



$$a = 4,904$$

$$b = 0,127$$

$$r = 0,983$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,904 + 0,127x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,904 + 0,127x$

$$x = 0,756$$

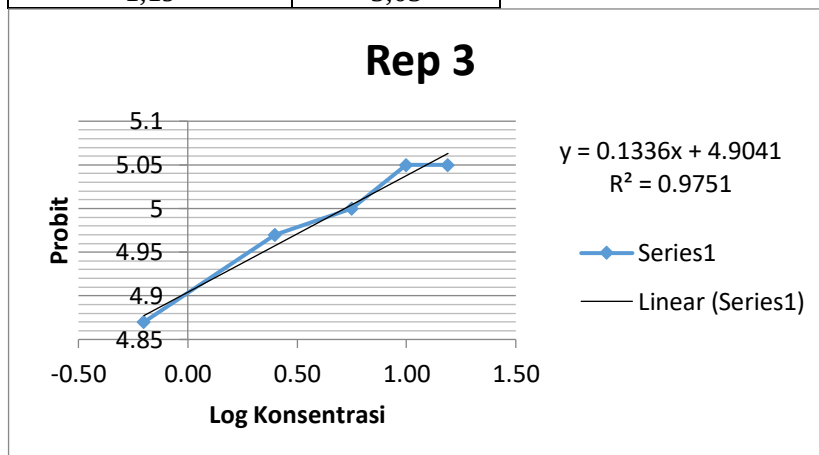
IC50= Antilog x

$$= \text{Antilog } 0,756$$

$$= 5,702 \text{ (Sangat Kuat)}$$

Kuersetin				
Replikasi	Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Inhibisi	Probit
3	0,63	-0,20	44,2	4,87
	2,5	0,40	48,59	4,97
	5,63	0,75	50	5
	10	1,00	51,88	5,05
	15,63	1,19	52,04	5,05

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
-0,20	4,87
0,40	4,97
0,75	5
1,00	5,05
1,19	5,05



$$a = 4,904$$

$$b = 0,134$$

$$r = 0,975$$

Pers. Garis $y = a + bx$

$$y = 4,904 + 0,134x$$

Probit 5 = 50% Peredaman

Jika $y=5$, maka : $5 = 4,904 + 0,134x$

$$x = 0,716$$

IC50= Antilog x

= Antilog 0,716

= 1,450 (Sangat Kuat)

Kuersetin					
Replikasi	IC50 (µg/mL)	Kategori	SD	X (µg/mL)	X ± SD
I	5,521	Sangat Kuat	2,404	4,224	4,224 ± 2,404
II	5,702	Sangat Kuat			
III	1,450	Sangat Kuat			

X	x	$(X - x)$	$(X - x)^2$
5,521	4,224	1,297	1,682
5,702		1,478	2,185
1,450		-2,774	7,695
		Jumlah	11,562

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-x)^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{11,562}{3-1}}$$

$$= \sqrt{5,781}$$

$$= 2,404$$

$$RSD = \frac{SD}{Rata-rata (x)} \times 100\%$$

$$= \frac{2,404}{4,224} \times 100\%$$

$$= 0,569 \% \text{ (Baik karena kurang dari 16\%)}$$

Lampiran 10. Tabel Probit (Finney, 1971)

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09