

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) DENGAN
METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI



Oleh :

Lutfia Ulfa Melina

NIM. 18040054

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

JEMBER

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) DENGAN
METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI

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



Oleh :

Lutfia Ulfa Melina

NIM. 18040054

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, 29 Agustus 2022

Pembimbing Utama,



Susilawati, M.Kes
NIDN. 4003127401

Pembimbing Anggota,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIDN. 0509088601

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Senin
Tanggal : 5 September 2022
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,



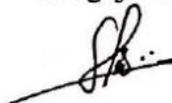
Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes
NIDN. 4009056901

Penguji II,



Susilawati, M.Kes
NIDN. 4003127401

Penguji III,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIDN. 0509088601

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas dr. Soebandi Jember,



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

PERNYATAAN ORSINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Lutfia Ulfa Melina

NIM : 18040054

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi 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 ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 29 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Lutfia Ulfa Melina
NIM 18040054

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Oleh:

Lutfia Ulfa Melina

NIM 18040054

Pembimbing

Dosen pembimbing Utama : Susilawati, M.Kes

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

PERSEMBAHAN

Segala puji dan rasa syukur kepada Allah SWT atas rahmat serta hidayahNya yang senantiasa selalu memberikan petunjuk, kemudahan, kekuasaan dan keyakinan sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orangtua saya, Bapak Muis B Sudi dan Ibu Fitria Al Mufidah yang mana telah menjadi motivator tertinggi dalam hidup saya untuk meraih semua mimpi dan cita-cita saya.
2. Saudara dan saudari saya, Achmad Royhan dan Selfia Melina sebagai penyemangat dan pelipur lara.
3. Kepada ibu dosen pembimbing saya, Ibu Susilawati, M.Kes, dan Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm yang mana telah banyak membimbing untuk kesuksesan penelitian saya.
4. Kepada laboran yang sudah banyak membantu saya dalam kegiatan penelitian yang saya lakukan.
5. Kepada teman seperjuangan dalam mengerjakan penelitian skripsi, Moch Hamdan, Yendi Laili Pratiiwi, Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi, Dwi Retno Wati, dan Agustin Nourma Diana yang selalu bahu membahu dan mampu menjadi tim yang baik untuk saya.
6. Kepada teman-teman farmasi, perawat dan semua teman yang terlibat secara langsung atau tidak langsung.

MOTTO

“Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras. Tidak ada keberhasilan tanpa kebersamaan. Tidak ada kemudahan tanpa doa”

~ **Ridwan Kamil** ~

“Akan selalu ada jalan menuju sebuah kesuksesan bagi siapapun, selama orang tersebut mau berusaha dan bekerja keras untuk memaksimalkan kemampuan yang ia miliki”

~ **Bambang Pamungkas** ~

“Always be yourself no matter what they say and never be anyone else even if they look better than you”

“Selalu menjadi diri sendiri tidak peduli apa yang mereka katakan dan jangan pernah menjadi orang lain meskipun mereka tampak lebih baik darimu”

~ **Lutfia Ulfa Melina** ~

ABSTRAK

Ulfa Melina, Lutfia*, Susilawati**, Hidayati, Sholihatil***.2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar belakang: Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai agen antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). **Metode:** Desain penelitian pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan desain penelitian eksperimen laboratorium yang dilakukan secara invitro dengan metode DPPH (*Diphenyl-picrylhydrazyl-radical*). Penelitian diawali dengan identifikasi senyawa metabolit sekunder dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan dan dilakukan analisis data. **Hasil penelitian:** Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin dan saponin. Hasil dari pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menunjukkan nilai IC_{50} $145,206 \pm 11,19$ $\mu\text{g/mL}$, dan kuersetin dengan nilai IC_{50} $19,1 \pm 1,67$ $\mu\text{g/mL}$. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin dan saponin. Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan kategori sedang.

Kata Kunci: Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.), Antioksidan, Kuersetin, DPPH

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Ulfa Melina, Lutfia*, Susilawati, Hidayati, Sholihatil*.2022. **Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Tamarind Leaves (*Tamarindus indica* L.) Using DPPH Method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)**. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi.

Background: Tamarind leaf (*Tamarindus indica* L.) is one of the plants which can be functionated as an antioxidant agent. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity of ethanol extract towards tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) using 70% ethanol as a solvent with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method. **Methods:** The research design of this research is a laboratory experimental research design where it is conducted by in vitro using DPPH (Diphenyl-picrylhydrazyl-radical) method. The study was begun by the identification of secondary metabolites, followed by antioxidant activity tests and data analysis. **Results:** The results of secondary metabolites identification in the ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) indicated the presence of alkaloids, flavonoids, phenolics, tannins and saponins. The results of testing the antioxidant activity of the ethanolic extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) obtained an IC_{50} value of $145.206 \pm 11.19 \mu\text{g/mL}$, and quercetin with an IC_{50} value of $19.1 \pm 1.67 \mu\text{g/mL}$. **Conclusion:** The ethanolic extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) contains alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, tannins and saponins. This research obtains antioxidant activity presence towards ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) in moderate category.

Keywords: Tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.), Antioxidant, Quercetin, DPPH

*Researcher

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-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 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)”.

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

1. Drs. 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
4. Susilawati, M.Kes selaku Pembimbing Utama
5. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku Pembimbing Anggota
6. Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes selaku Ketua Penguji

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 29 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN ORSINALITAS SKRIPSI	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 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 Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L.)	8
2.1.1	Morfologi Tanaman	8
2.1.2	Klasifikasi Tanaman.....	10
2.1.3	Kandungan Kimia	11
2.1.4	Penelitian Daun Asam Jawa.....	11
2.1.5	Manfaat Untuk Kesehatan.....	11
2.2	Radikal Bebas.....	13
2.2.1	Definisi	13
2.2.2	Sumber	14
2.2.3	Mekanisme	16
2.2.4	Penyakit yang Ditimbulkan Radikal Bebas	17
2.3	Antioksidan	19
2.3.1	Definisi.....	19
2.3.2	Sumber	19
2.3.3	Mekanisme	20
2.4	Uji Aktivitas Antioksidan.....	22
2.4.1	DPPH	23
2.5	Tinjauan Simplisia.....	25
2.5.1	Definisi.....	25
2.5.2	Macam-macam.....	25
2.5.3	Waktu Panen	26
2.5.4	Cara Pembuatan	27
2.6	Tinjauan Ekstrak dan Ekstraksi	31
2.6.1	Definisi.....	31
2.6.2	Macam-macam Ekstraksi	32
2.6.3	Pelarut	34
2.7	Tinjauan Instrumen Spektrofotometri UV-Vis.....	35
2.7.1	Definisi.....	35
2.7.2	Jenis.....	36
2.7.3	Bagian-bagian	37
2.7.4	Syarat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	38
2.7.5	Pengujian In Vitro	39

2.7.6	Tinjauan Kuersetin	39
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	41
3.1	Kerangka Konseptual	41
3.2	Hipotesis	42
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	43
4.1	Desain Penelitian	43
4.2	Populasi	43
4.3	Sampel	43
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	44
4.5	Variabel Penelitian	44
4.5.1	Variabel Bebas	44
4.5.2	Variabel Terikat	44
4.5.3	Variabel Terkendali.....	44
4.6	Definisi Operasional.....	44
4.7	Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data	46
4.7.1	Alat dan Bahan	46
4.7.2	Teknik Pengumpulan Data.....	46
4.8	Analisis Data	52
BAB 5	HASIL PENELITIAN	53
5.1	Hasil Determinasi Tanaman	53
5.2	Ekstraksi Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L).....	53
5.3	Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L)	54
5.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	55
5.4.1	Penentuan Absorbansi Senyawa DPPH	55
5.4.2	Pengukuran Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L).....	56
5.4.3	Pengujian Aktivitas Antioksidan Kuersetin dan Ekstrak Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L).....	58
BAB 6	PEMBAHASAN	62
6.1	Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L)	62
6.2	Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	64

BAB 7 PENUTUP	68
7.1 Kesimpulan.....	68
7.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Keaslian Penelitian	6
Tabel 2.1 <i>Tamarindus indica</i> L. sebagai Obat Herbal di Indonesia.....	12
Tabel 4.1 Definisi Operasional	44
Tabel 5.1 Rendemen Ekstrak Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L).....	54
Tabel 5.2 Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L)	55
Tabel 5.3 Hasil Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin	57
Tabel 5.4 Hasil Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi	58
Tabel 5.5 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin	59
Tabel 5.6 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L).....	60
Tabel 5.7 Hasil Analisis Nilai IC ₅₀	61

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pohon Asam Jawa	9
Gambar 2.2 Reaksi Rantai Oksidasi Radikal Bebas	21
Gambar 2.3 Bentuk Radikal DPPH Menjadi Non Radikal	24
Gambar 2.4 Diagram Alat Spektrofotometri UV-Vis (Single beam)	36
Gambar 2.5 Diagram Alat Spektrofotometri UV-Vis (double beam).....	37
Gambar 2.6 Struktur Kimia Kuersetin	39
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	41
Gambar 5.1 Kurva Absorbansi DPPH	56

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	: <i>2,2 azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)</i>
BHA	: <i>Butylated Hidroxyanisol</i>
BHT	: <i>Butylated Hidroxytoluene</i>
CUPRAC	: <i>Cupric Reducing Antioxidant Power</i>
DNA	: <i>Deoxy Nucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
HORAC	: <i>Hydroxyl Radical Averting Capacity</i>
IC50	: <i>Inhibition Concentration</i>
ORAC	: <i>Oxygen Radical Absorption Capacity</i>
PFRAP	: <i>Potassium Ferricyanide Reducing Power</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superperoksida Dismutase</i>
TBHQ	: <i>Tert-Butylated Hidroxyquinon</i>
TRAP	: <i>Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter</i>
UV-VIS	: <i>Ultra Violet – Visible</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada saat ini kita sedang berada di era modern dimana segala pola hidup masyarakat telah banyak mengalami perubahan dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi. Seiring berjalannya perubahan tersebut tak banyak masyarakat yang peduli akan kesehatan. Terdapat beberapa faktor yang dapat berpengaruh buruk bagi kesehatan. Selain pola hidup yang tidak sehat, faktor kondisi lingkungan yang terlalu banyak polusi juga dapat menyebabkan radikal bebas dalam tubuh terus meningkat sehingga dapat menurunkan kualitas hidup masyarakat (Dominica dan Handayani, 2019).

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas dapat mengakibatkan stres oksidatif yang merupakan aktivitas penyerangan jaringan sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes melitus, kardiovaskular, penuaan dini, hingga dapat menyebabkan kanker (Phaniendra *et al.*, 2015). Menurut Kementerian Kesehatan RI (2015) penyakit kanker disebut sebagai penyebab kematian nomor dua setelah kardiovaskular di dunia. Kasus kanker yang terdapat di Indonesia juga memiliki nilai yang cukup tinggi. Ditinjau dari data Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2013, 1,4 per 1000 penduduk di Indonesia yaitu sekitar 347.792 jiwa terkena penyakit kanker. Angka kejadian tersebut terus meningkat hingga 1,8 per 1000 jiwa pada tahun 2018. Kejadian tersebut

diperkirakan akan terus mengalami peningkatan pada tahun 2030 hingga dapat mencapai 21,7 juta jiwa dan 13 juta diantaranya meninggal dunia. Oleh sebab itu, senyawa antioksidan dibutuhkan untuk menangkal serangan radikal bebas.

Senyawa antioksidan yang diperoleh secara alami maupun buatan dapat digunakan untuk mengatasi radikal bebas karena memiliki kemampuan untuk menekan reaksi oksidatif yang dapat menyebabkan berbagai penyakit didalam tubuh (Adrianta, 2020). Butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), dan tert-butylhydroxyquinone (TBHQ) merupakan senyawa buatan atau sintetis yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, tetapi penggunaannya telah dibatasi karena sifat karsinogenik yang terdapat di dalamnya. Menurut berbagai penelitian yang telah dilakukan, BHA dan BHT dapat menyebabkan tumor bila digunakan pada hewan percobaan dalam jangka waktu yang lama (Erawati, 2012), sehingga diperlukan antioksidan alternatif berupa senyawa dari alam. Senyawa antioksidan alami dapat diperoleh dari suatu tanaman yang mengandung senyawa fenolik atau polifenol berupa flavonoid, tanin dan saponin (Rustini, 2017) . Menurut Hariana (2013) terdapat lebih dari 20.000 jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat di Indonesia, 1.000 jenis telah terdaftar, dan 300 jenis digunakan dalam pengobatan tradisional.

Sumber flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan merupakan senyawa fenolik terbesar seperti zat warna merah, biru, ungu, serta beberapa zat warna kuning. Flavonoid berperan sebagai antidiabetes, diuretik, antijamur, antiinflamasi, antibakteri, antitumor, anti alergi, mengurangi oksidasi lemak,

mencegah osteoporosis dan dapat mencegah kolesterol tinggi pada manusia (Sari *et al.*, 2021).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai agen antioksidan adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Tunny *et al.* (2020) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun asam jawa mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, polifenol, tanin dan flavonoid dengan menggunakan pereaksi warna. Ekstrak daun asam jawa memiliki nilai IC_{50} sebesar 143,278 $\mu\text{g/mL}$ dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian berikutnya juga dilakukan oleh (Rahmadani dan Nasution, 2021) menyatakan bahwa kulit buah asam jawa mengandung senyawa golongan tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} yang diperoleh pada fraksi etil asetat sebesar 48,13 $\mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} pada fraksi n-heksana 53,03 $\mu\text{g/mL}$. Dalam penelitian (Risfianty, 2021) juga menyatakan bahwa buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki kandungan antioksidan baik yang muda maupun tua. Untuk memperoleh zat aktif flavonoid sebagai antioksidan memerlukan pelarut yang sesuai dalam proses ekstraksi. Artinya, pelarut cenderung melarutkan senyawa dengan polaritas yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar maupun sebaliknya (Arifianti *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian diatas, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menggunakan pelarut etanol 70%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) berpotensi

sebagai antioksidan berdasarkan perbandingan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH terhadap kuersetin. Metode DPPH dipilih karena metode ini paling umum digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan sampel secara in vitro, metode ini prosesnya lebih cepat, sederhana, serta tidak memerlukan jumlah sampel yang banyak (Lung dan Destiani, 2018).

Prinsip kerja metode DPPH adalah pengurangan intensitas warna DPPH yang disebabkan karena berkurangnya jumlah DPPH yang bereaksi dengan sampel menjadi DPPH-H. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning. Perubahan warna yang terjadi karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Semakin kuning warna yang dihasilkan maka aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut semakin poten (Wijaya *et al.*, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.)?
2. Berapa nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).
2. Menganalisis nilai IC₅₀ dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan dilakukan penelitian ini, diharapkan untuk mendapatkan beberapa manfaat. Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain

Dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya dalam pengujian antioksidan bahan alam yang baru dan dapat digunakan sebagai sumber informasi serta referensi yang dapat dijadikan pembandingan dalam penelitian selanjutnya.

1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi dan pengetahuan bagi kemajuan dalam bidang kesehatan dan pengetahuan alam terhadap potensi antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

1.4.4 Manfaat bagi Institusi Pendidikan

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberi kontribusi dalam penambahan ilmu pengetahuan, khususnya dalam ilmu kefarmasian mengenai antioksidan, serta dapat dijadikan sebagai bahan bacaan di perpustakaan dan dapat memberi referensi bagi mahasiswa lain.

1.5 Keaslian penelitian

Tabel 1.1 Keaslian penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Tunny <i>et al.</i>, 2020	a. Menggunakan metode DPPH b. Menggunakan Sampel Daun asam jawa c. Ekstraksi maserasi	a. Menggunakan pelarut Metanol, pada penelitian ini menggunakan etanol 70%. b. Beda konsentrasi sampel dari sebelumnya, pada penelitian sebelumnya menggunakan konsentrasi sampel sebesar 10, 15, 20, 50 dan 100 ppm Sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm.
Rahmadani dan Nasution, 2021	a. Menggunakan metode DPPH	a. Beda sampel yang digunakan, pada

penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak kulit buah asam jawa, sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel daun asam jawa.

- b. Penelitian sebelumnya menggunakan Pelarut etanol 96%, sedangkan pada penelitian ini menggunakan etanol 70% sebagai pelarut.
 - c. Penelitian sebelumnya menggunakan metode ekstraksi perkolasi, pada penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi.
 - d. Beda konsentrasi sampel dari sebelumnya, pada penelitian sebelumnya menggunakan konsentrasi sampel sebesar 20, 30, 40, 50 dan 60 $\mu\text{g/ml}$, Sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm.
-

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Tamarindus indica L. atau sering dikenal dengan sebutan asam jawa merupakan tumbuhan yang berasal dari Afrika, selain itu asam jawa juga telah banyak berkembang di negara India, Sudan Pakistan, Filipina, Spanyol, Meksiko, termasuk juga di Indonesia (Putri, 2017). Asam jawa dapat tumbuh dan berkembang di berbagai lokasi, baik di dataran tinggi maupun rendah, dalam musim hujan maupun musim kemarau, serta dapat ditanam di tanah liat maupun tanah pasir (BPOM, 2013). *Tamarindus indica* L memiliki nama lain yang berbeda pada setiap daerah yaitu asem (sunda), acem (madura), asang jawa atau asang jawi (sulawesi), asam (malaysia), sampalok, kalamagi (tagalong), makhm (thailand), magyee (burma), khoua me (kamboja), khaam (laos), tamarind (inggris) dan trai me (vietnam) (Kurnia *et al.*, 2014).

2.1.1 Morfologi Tanaman

Pohon asam jawa merupakan tumbuhan yang kokoh dan kuat. Tumbuhan ini memiliki ukuran yang besar hingga mencapai ketinggian 25-30 meter dan diameter batangnya mencapai 2 meter. Pohon asam jawa memiliki banyak ranting yang bercabang serta daun yang sangat lebat dan menyebar luas. Batangnya memiliki warna coklat keabu-abuan, berkulit kasar, bersisik dan pecah-pecah (Puspasari, 2014). Di Indonesia kayu dari pohon asam jawa ini banyak dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan mainan seperti dakon

(Jawa) atau congklak (Sunda) dan gangsing, serta mainan lain yang terbuat dari kayu asam.



Gambar 2.1 Pohon asam jawa (Dokumen pribadi, 2021)

Daun asam jawa berbentuk menyirip, bersifat majemuk tunggal berhadapan, berdaun panjang sekitar 7,5-15 cm, berselang dan bertangkai, memiliki pasangan hingga 8-16 pasang, anak daun berbentuk lonjong dengan panjang masing-masing 1-3,5 cm x 0,5-1 cm. Daunnya berwarna hijau, pada usia muda warnanya lebih pucat dibandingkan dengan daun yang sudah berusia tua dengan tepi yang rata, ujung daun tumpul dan pangkal daun yang membulat (Puspasari, 2014).

Bunga asam jawa berukuran 16 cm, terletak pada ketiak daun atau di ujung ranting, memiliki 4 kelopak dan 5 mahkota dengan warna kuning keputihan dan bergaris merah kecoklatan berukuran 1,5cm, serta memiliki bau yang wangi (Puspasari, 2014).

Buah asam jawa merupakan buah sejati tunggal yang tergolong dalam jenis kacang polong, berbentuk silinder lurus atau melengkung dengan ujung yang

membulat berukuran 5-15 cm dan membungkus biji (Puspasari, 2014). Setiap buah asam jawa terdiri dari 10 biji yang terbungkus oleh daging buah berwarna coklat kemerahan, kemudian setelah matang berubah menjadi hitam atau coklat kehitaman, serta berasa dan mengeluarkan aroma asam. Biji buah asam jawa berukuran kecil, berbentuk pipih, tidak beraturan, berwarna coklat dan keras saat matang.

2.1.2 Klasifikasi Tanaman

Berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System - Plant Data base*, klasifikasi dari asam jawa (*Tamarindus indica* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Tamarindus</i> L.
Species	: <i>Tamarindus indica</i> L.

2.1.3 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia dari fraksi daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yaitu, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol (Nurhayarti *et al.*, 2019). Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Tunny *et*

al.(2020) menyatakan bahwa daun asam jawa memiliki kandungan alkaloid, saponin, polifenol, tanin dan flavonoid dengan menggunakan pereaksi warna. Flavonoid merupakan suatu metabolit sekunder yang diperoleh dari polifenol yang dapat ditemukan hampir pada setiap tumbuhan berwarna hijau. Flavonoid merupakan sumber antioksidan yang terbukti mampu mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif (Wijaya *et al.*, 2014).

2.1.4 Penelitian Daun Asam Jawa

Penelitian tentang uji antioksidan pada daun asam jawa, sebelumnya pernah dilakukan oleh (Tunny *et al.*, 2020) berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak metanol daun asam jawa memiliki potensi sebagai sumber antioksidan. Selain dapat digunakan sebagai antioksidan, beberapa peneliti menggunakan daun asam jawa yaitu sebagai antidiabetes (Azis dan Ruslan, 2021), antiinflamasi (Anggara *et al.*, 2021), antipiretik (Fitria, 2021), analgesik (Kartikawati *et al.*, 2020) serta masih banyak lagi peneliti yang menggunakan daun asam jawa sehingga daun asam jawa dapat berpotensi sebagai pengobatan herbal.

2.1.5 Manfaat Untuk Kesehatan

Selain digunakan sebagai bumbu dapur, tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu tanaman yang telah banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal di seluruh dunia. Bagian yang digunakan adalah daun, buah, batang dan biji (Faradiba, 2016). Zat yang terkandung dalam daun asam jawa telah banyak dimanfaatkan untuk menyembuhkan berbagai penyakit dan digunakan untuk menghambat aktivitas bakteri dalam tubuh. Bagian dari daun asam jawa berkhasiat sebagai kholagogik dan laksatif, selain itu getah dari

daunnya berkhasiat sebagai diuretik. Buahnya dapat dimanfaatkan sebagai hemoroid dan konstipasi. Hasil dekokta dari daun asam jawa juga dapat bermanfaat untuk mengatasi batuk dan demam (Faradiba, 2016).

Tabel 2.1 *Tamarindus indica* L. Sebagai obat herbal di Indonesia

No	Suku bangsa Indonesia	Bagian yang digunakan	Penggunaan tradisional
1	Sakai-Mandau Riau	Campuran buah	Aborsi
2	Mentawai-Siberut Pulau Sumatera Barat	Campuran buah	Sakit perut, pasca melahirkan
3	Sunda-Jawa Barat	Campuran buah	Demam, urolitiasis, pasca persalinan, nyeri tubuh
		Campuran daging buah	Demam, terkilir
		Buah	Perut kembung
		Daun muda + buah	Bau badan tidak sedap
		Daun muda + daging buah	Sembelit
4	Jawa-Jawa Tengah	Campuran buah	Pergantian kulit
		Campuran buah	Nyeri menstruasi
		Buah	Demam, penyegar badan
5	Madura-Pulau Madura	Campuran buah	Asma, diabetes
		Campuran daun muda	Mual saat hamil
		Campuran buah	Pelangsing
6	Bali-Pulau Bali	Campuran buah	Batuk dengan sakit tenggorokan
		Campuran buah	Perut kembung
7	Sumbawa-Pulau Sumbawa	Campuran buah	Gatal
		Campuran buah	Penyakit/gangguan paru-paru
8	Dawan - Timor Utara Tengah	Buah	Demam
9	Atoni-Pulau Kupang	Buah muda	Diare
10	Kutai - Kalimantan Timur	Buah	Bersalin

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Definisi

Radikal bebas adalah suatu molekul atau senyawa yang berdiri sendiri dan memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Adanya satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan menyebabkan molekul bersifat reaktif. Radikal bebas bersifat tidak stabil sehingga selalu mengambil elektron pada molekul sekitarnya (Yuslianti, 2017).

Elektron dari DNA yang terambil oleh radikal bebas dapat mengakibatkan munculnya perubahan struktur DNA sehingga menimbulkan sel-sel mutan. Apabila mutasi ini berlangsung lama dapat menjadi kanker. Radikal bebas juga terlibat dalam proses penuaan, reaksi inisiasi radikal bebas yang terjadi di mitokondria menyebabkan diproduksinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat reaktif. Radikal yang bersifat reaktif dapat menimbulkan terjadinya kerusakan sel, mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi, hingga menimbulkan kematian sel dan menyebabkan adanya berbagai penyakit (Ramadhan, 2015).

Radikal bebas dapat diperoleh dari faktor internal seperti hasil metabolisme tubuh serta dapat diperoleh dari faktor eksternal seperti asap rokok, sinar ultra violet, zat kimiawi dalam makanan serta polutan lain (Werdhasari, 2014).

2.2.2 Sumber

Menurut Yuslianti (2017) Radikal bebas diperoleh dari dua sumber yaitu berasal dari dalam tubuh (endogenus) dan berasal dari luar tubuh (eksogenus).

a. Radikal bebas endogenus

1. Autoksidasi

Autoksidasi merupakan suatu proses oksidasi non enzimatis yang melalui proses metabolisme (oksidasi) dengan menggunakan oksigen (aerob). Autoksidasi merupakan senyawa yang memiliki ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik atau tersier yang mudah teroksidasi oleh udara (Yuslianti, 2017). Beberapa jenis molekul seperti hemoglobin, katekolamin, mioglobin, tiol dan sitokrom C yang telah tereduksi merupakan sumber penghasil radikal bebas (Violita, 2020).

2. Oksidasi enzimatik

Oksidasi enzimatik merupakan suatu proses oksidasi yang melibatkan beberapa enzim seperti xantin oksidase, aldehida oksidase, asam amino oksidase, lipoksigenase, serta prostaglandin sintase. Hasil produk akhir dari proses tersebut menyebabkan adanya radikal bebas (Violita, 2020).

3. Respiratory burst

Respiratory burst atau Oxygen burst adalah suatu proses aktivasi sel fagositik (makrofag). Proses aktivasi tersebut dapat meningkatkan glukosa yang digunakan untuk mereduksi NADP menjadi NADPH dan meningkatkan oksigen yang digunakan pada proses oksidasi NADPH serta menghasilkan superoksida yang berguna untuk memfagosit mikroorganisme yang merupakan pembentukan awal dari radikal bebas (Violita, 2020).

b. Radikal bebas eksogenus

1. Radiasi

Paparan radiasi yang digunakan sebagai terapi menyebabkan terjadinya malfungsi pada jaringan. Sumber radiasi dapat diperoleh dari suatu sinar X dan gamma, proton, elektron, neutron, alfa dan beta (Yuslianti, 2017). Sumber tersebut dapat menimbulkan adanya radikal bebas dalam tubuh dengan melisiskan air menjadi suatu radikal OH (Violita, 2020).

2. Farmakoterapi

Farmakoterapi merupakan sumber yang terlibat dalam meningkatnya radikal bebas dengan meningkatkan tekanan oksigen. Efek farmakoterapi tersebut dapat diperoleh dari penggunaan obat seperti antibiotik golongan quinoid dan obat-obatan kemoterapi. Selain itu penggunaan asam askorbat yang berlebihan juga dapat mengakibatkan peroksidasi lipid lebih cepat (Violita, 2020).

3. Asap rokok

Asap rokok yang dihasilkan oleh perokok aktif yang bersumber dari campuran udara dan gas nafas buangan akan memproduksi agen radikal bebas yang berbahaya seperti nitrit okside, radikal peroksil serta radikal berbasis karbon (O_2CCl_3). Agen tersebut memiliki dampak yang berbahaya bagi perokok pasif. Oksidan dari asap rokok tersebut dapat menghabiskan antioksidan intraseluler yang terdapat dalam paru-paru. Oksidan yang terdapat dalam asap rokok seperti aldehida, peroksida, epoksida dan radikal

bebas lain menyebabkan adanya kerusakan pada alveoli dan saluran nafas (Yuslianti, 2017).

2.2.3 Mekanisme

Suatu radikal bebas baik yang berasal dari dalam tubuh (endogenus) dan dari luar tubuh (eksogenus) terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi. Pembentukan radikal bebas terjadi terus menerus dalam tubuh dengan melalui proses metabolisme sel, peradangan, nutrisi maupun radiasi sinar gamma, sinar X, sinar ultraviolet (UV), bahan kimia pada makanan, obat-obatan dan polusi lingkungan serta pola makan. Apabila radikal bebas bereaksi dengan komponen biologis seperti lipid, protein dan DNA, maka akan menghasilkan senyawa yang teroksidasi dan menimbulkan kerusakan oksidatif (stress oksidatif). Proses reaksi radikal bebas terjadi dalam tiga tahap yaitu, pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir (terminasi) (Labola dan Puspita, 2018).

Tahap inisiasi merupakan proses pertama terbentuknya spesies radikal. Secara umum, proses ini merupakan terjadinya peristiwa pembelahan homolitik yang jarang terjadi karena adanya energi yang terhambat. Tahapan ini terbentuk karena dipengaruhi oleh beberapa hal seperti suhu tinggi, ultraviolet (UV) maupun katalis yang mengandung logam sebagai penghalang energi. Selanjutnya pada tahap propagasi, bagian rantai dari reaksi berantai. Pada saat radikal bebas reaktif tersebut dihasilkan, maka akan menjadi pemicu untuk bereaksi dengan molekul yang stabil dan terbentuk radikal bebas yang baru. Hal ini terus menerus berlangsung dengan melibatkan abstraksi hidrogen atau

penambahan radikal menjadi ikatan rangkap dan menghasilkan banyak radikal bebas. Sementara pada tahap terminasi, reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal (Labola dan Puspita, 2018).

2.2.4 Penyakit yang Ditimbulkan Radikal Bebas

Menurut Fakriah (2019) Adanya radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel dapat menimbulkan berbagai penyakit, seperti:

a. Kerusakan struktur DNA (*Deoxy Nucleic Acid*) pada inti sel.

Kerusakan DNA dapat disebabkan oleh adanya virus, radiasi dan zat kimia yang bersifat karsinogenik. Selain itu, radikal bebas juga merupakan salah satu penyebabnya. Sehingga mengakibatkan pembelahan sel terganggu. Suatu gen yang mengalami perubahan abnormal di dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya kanker.

b. Kerusakan membran sel.

Komponen penting dalam suatu membran sel mengandung asam lemak tak jenuh yang bersifat rentan terhadap serangan radikal bebas. Hal tersebut dapat mengakibatkan fungsi dan struktur dari membran mengalami perubahan dan yang lebih berbahaya adalah dapat membunuh sel pada jaringan tubuh sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel organ tubuh.

c. Kerusakan protein

Kerusakan yang terjadi akibat adanya serangan radikal bebas ini termasuk oksidasi protein yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan tempat protein itu

berada. Misalnya kerusakan protein terjadi pada lensa mata dapat berakibat katarak.

d. Kerusakan lipid peroksida

Kerusakan lipid terjadi apabila suatu asam lemak tak jenuh terserang oleh radikal bebas, sehingga reaksi antar zat gizi dalam tubuh menghasilkan peroksida yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel yang dianggap sebagai salah satu penyebab terjadinya berbagai penyakit degeneratif (kemerosotan fungsi tubuh).

e. Dapat menimbulkan autoimun

Dalam keadaan normal, antibodi hanya terbentuk apabila terdapat antigen yang masuk ke dalam tubuh. Autoimun merupakan terbentuknya antibodi terhadap suatu sel di dalam tubuh sehingga dapat merusak jaringan.

f. Proses penuaan

Tubuh yang terpapar oleh radikal bebas akan menyebabkan suatu penyakit apabila sistem imunitas tubuh tidak dapat mentoleransi keberadaan senyawa radikal bebas. Hal ini dipengaruhi oleh keseimbangan kinerja radikal bebas yang berada dalam tubuh maupun yang masuk ke dalam tubuh. Apabila kadar radikal bebas telah melampaui kemampuan tubuh untuk mengelolanya maka akan timbul kondisi stress oksidatif (*oxidative stress*). Stress oksidatif ini lah yang menjadi penyebab utama terjadinya penyakit stroke, kardiovaskular, hipertensi, preeklamsia, kanker dan lainnya.

2.3 Antioksidan

2.3.1 Definisi

Antioksidan secara kimia dapat diartikan sebagai pendonor elektron. Antioksidan merupakan suatu senyawa kimia yang dapat memperlambat atau menghambat kerusakan yang terjadi akibat adanya proses oksidasi (Pardede, 2018). Antioksidan dipercaya dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas.

2.3.2 Sumber

Menurut Yuslianti (2017), berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan yang berasal dari dalam tubuh (antioksidan enzimatik) serta antioksidan non-enzimatik yang dapat diperoleh dari alam (antioksidan alami) dan dari hasil sintesis suatu reaksi kimia (antioksidan sintetik).

Sumber antioksidan yang diproduksi oleh tubuh yang berupa enzim yaitu superoksida dismutase, glutathione peroxidase, peroxidase dan katalase. Beberapa senyawa seperti Butylated Hydroxyanisol (BHA), Butylated Hydroxytoluene (BHT), Tert-Butylated Hydroxyquinon (TBHQ) serta tokoferol merupakan antioksidan sintetik telah sering digunakan dan telah diizinkan penggunaannya pada makanan (Yuslianti, 2017).

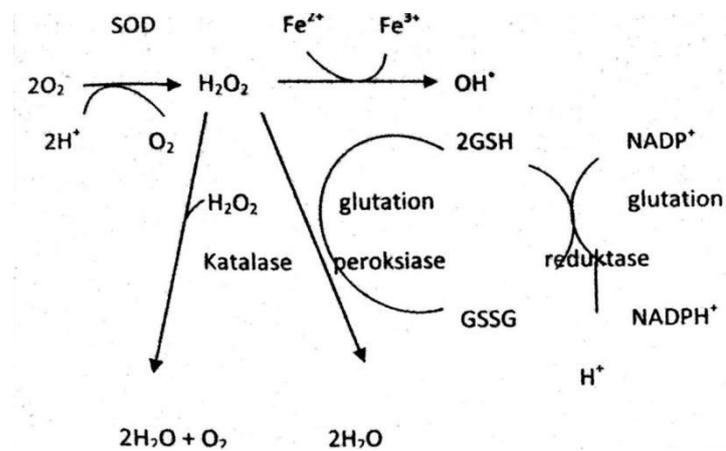
Seiring dengan berkembangnya penggunaan senyawa antioksidan, telah banyak tanaman yang diteliti mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang dapat beraktivitas sebagai antioksidan. Senyawa fenolik memiliki efek antioksidan dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi

radikal bebas. Kandungan antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman dapat bertindak sebagai *radical scavenger* dan membantu mengubah radikal bebas yang kurang reaktif. Antioksidan alami yang terdapat pada seluruh bagian tanaman berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol. Antioksidan yang terdapat pada tanaman, menarik perhatian karena potensi dan efek terapi yang dimilikinya (Febriyenti *et al.*, 2018).

2.3.3 Mekanisme

Menurut Yuslianti (2017) mekanisme suatu antioksidan terbagi menjadi tiga jenis yaitu, antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena kelompok antioksidan ini dapat mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang lebih stabil sebelum bereaksi membentuk radikal bebas baru seperti *Superperoksida Dismutase (SOD)*, *glutathione* peroksidase, katalase, peroksidase dan protein pengikat logam (ferritin, ceruloplasmin, albumin, haptoglobin, hemopexin, transferrin dan laktoferin). Antioksidan primer selain bekerja untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru, antioksidan ini juga bekerja dengan mengubah reaktivitas radikal bebas menjadi kurang reaktif sehingga tidak berbahaya lagi bagi sel tubuh. Antioksidan primer yang terdapat didalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini sangat penting karena kemampuannya yang dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Cara kerja enzim ini sangat dipengaruhi oleh mineral-mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang terdapat pada makanan dan minuman.



Gambar 2.2 Reaksi rantai oksidasi radikal bebas (Yuslianti, 2017)

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Antioksidan sekunder diantaranya seperti vitamin E, vitamin C, vitamin A dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang bekerja memperbaiki sel-sel dan jaringan yang mengalami kerusakan karena adanya serangan radikal bebas. Jenis enzim seperti metionin sulfoksidan merupakan jenis antioksidan tersier yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk memperbaiki DNA pada penderita kanker.

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan reaksi antioksidan dengan senyawa radikal organik, ABTS (*2,2 azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)*) merupakan reaksi antioksidan dengan

radikal kation organik, FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) merupakan reaksi antioksidan dengan Fe (III) kompleks, ORAC (*oxygen radical absorption capacity*) merupakan reaksi antioksidan dengan radikal peroksil, yang diinduksi oleh (*2,2'-azobis-2-amidinopropane*), HORAC (*hydroxyl radical averting capacity*) merupakan kapasitas suatu antioksidan untuk menetralkan radikal OH dengan Co(II) berbasis *Fenton-like system*, TRAP (total peroxy radical trapping antioxidant parameter) merupakan kapasitas suatu antioksidan untuk menyerap radikal yang berasal dari luminol, dihasilkan dari dekomposisi AAPH, CUPRAC (*cupric reducing antioxidant power*) merupakan reduksi Cu (II) menjadi Cu (I) dari suatu antioksidan, PFRAP (*potassium ferricyanide reducing power*) merupakan reduksi potasium ferrisianid oleh suatu antioksidan kemudian reaksi dilanjutkan potasium ferrosianid dengan Fe^{3+} dan Fluorimetry merupakan suatu emisi cahaya oleh zat yang menyerap cahaya atau radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang berbeda (Pisoschi dan Negulescu, 2012).

Dalam penelitian ini metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah menggunakan DPPH. Metode ini merupakan metode pengujian antioksidan secara *in vitro* yang sering digunakan karena adanya beberapa kelebihan yang dimiliki yaitu sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel (Lung dan Destiani, 2018).

2.4.1 Metode DPPH

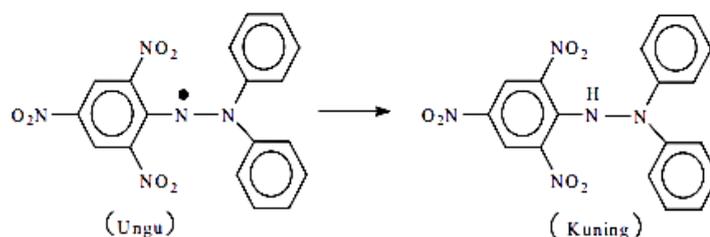
a. Definisi

Metode DPPH merupakan metode *in vitro* yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena metode ini memiliki kelebihan

yaitu sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. Selain itu, metode ini tidak memerlukan substrat karena radikal bebas sudah tersedia secara langsung untuk mengganti substrat (Rasyadi, 2021). DPPH digunakan untuk mengevaluasi potensi antioksidan dalam meredam radikal bebas. DPPH hanya larut dalam pelarut organik seperti methanol dan etil asetat, juga digunakan untuk pengujian antioksidan yang bersifat polar. Selain itu, berdasarkan beberapa jurnal, karena sifatnya sebagai radikal bebas, uji DPPH dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti cahaya, pH, jenis pelarut, lama proses, ion organik, garam dan suhu (Citta, 2019).

b. Mekanisme

Mekanisme kerja dalam metode DPPH adalah dimana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm, semakin kuning warna yang dihasilkan maka aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut semakin poten (Wijaya *et al.*, 2014).



Gambar 2.3 Bentuk radikal DPPH menjadi non radikal (Wijaya, 2014)

Pada gambar struktur diatas merupakan struktur dimana DPPH yang bersifat radikal selanjutnya berikatan dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu

antioksidan sehingga menjadi non radikal (Wijaya *et al.*, 2014). Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning (Wijaya *et al.*, 2014).

c. Tingkat kekuatan

Pengujian dengan menggunakan metode DPPH dapat memberikan informasi mengenai kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dapat dilihat berdasarkan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) kemudian hasil yang diperoleh dibandingkan dengan senyawa lain yang juga memiliki aktivitas antioksidan seperti kuersetin (Wulansari, 2018). Nilai IC₅₀ dapat diartikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Agustina *et al.*, 2020).

Intensitas kekuatan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) jika menunjukkan nilai kurang dari 50 µg/mL dengan perubahan warna kuning pucat berarti aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai berada diantara 50-100 µg/mL dengan perubahan warna kuning berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai berada diantara 101-150 µg/mL dengan perubahan warna ungu berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai lebih dari 150 µg/mL dengan perubahan warna ungu gelap berarti aktivitas antioksidannya lemah (Agustina, *et al.*, 2020 ; Sadeer, 2020).

2.5 Tinjauan Simplisia

2.5.1 Definisi

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2014).

2.5.2 Macam-macam

Menurut Materia Medika Indonesia Jilid VI (1995), simplisia digolongkan menjadi tiga, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral.

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang masih berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang keluar dengan sendirinya dari tanaman atau isi sel yang dipisahkan dari tanamannya dengan cara tertentu dan belum berupa zat kimia.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia.

c. Simplisia mineral

Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan mineral yang belum mengalami pengolahan atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia.

2.5.3 Waktu Panen

Menurut Erlangga (2017), Waktu pemanenan yang tepat akan menghasilkan simplisia yang mengandung bahan berkhasiat yang optimal. Kandungan kimia dalam tumbuhan tidak sama sepanjang waktu. Kandungan kimia akan mencapai kadar optimum pada waktu tertentu. Ketentuan saat pemanenan tumbuhan atau bagian tumbuhan adalah sebagai berikut.

- a. Biji (semen) dipanen pada saat buah sudah tua atau buah sudah mengering.
- b. Buah (fructus) dipanen saat buah sudah masak atau sudah tua tetapi belum masak.
- c. Daun (folia) dipanen pada saat tumbuhan menjelang berbunga atau sedang berbunga tetapi belum berbuah.
- d. Bunga (flos) dipanen pada saat masih dalam keadaan menguncup atau tepat mekar.
- e. Kulit batang (cortex) dipanen atau diambil dari tumbuhan yang telah tua, sebaiknya dilakukan pada musim kemarau agar kulit kayu mudah dikelupas.
- f. Umbi lapis (bulbus) dipanen pada saat umbi mencapai besar optimum, yaitu pada waktu bagian atas tanaman sudah mulai mengering.
- g. Rimpang (rhizoma) dipanen pada saat pertumbuhan telah maksimal dan bagian atas tanah sudah mulai mengering, yaitu pada awal musim kemarau.

2.5.4 Cara Pembuatan

Setelah dilakukan pemanenan bahan baku simplisia, maka tahapan penanganan pasca panen adalah sebagai berikut.

- a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain bergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta kotoran lain. Tanah mengandung mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya juga mengandung sejumlah mikroba.

Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Pada simplisia akar, batang atau buah dapat pula dilakukan pengupasan

kulit luarnya untuk mengurangi jumlah mikroba awal karena sebagian besar mikroba biasanya terdapat pada permukaan bahan simplisia. Bahan yang telah dikupas tersebut mungkin tidak memerlukan pencucian jika cara pengupasnya dilakukan dengan tepat dan bersih.

d. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan. Oleh karena itu bahan simplisia seperti temulawak, temu giring, jahe, kencur dan bahan sejenis lainnya dihindari perajangan yang terlalu tipis untuk mencegah berkurangnya minyak atsiri. Penjemuran sebelum perajangan diperlukan untuk mengurangi pewarnaan akibat reaksi antara bahan dan logam pisau. Pengeringan dilakukan dengan sinar matahari selama satu hari.

e. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah

penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel, masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Pada tumbuhan yang masih hidup pertumbuhan kapang dan reaksi enzimatik yang merusak itu tidak terjadi karena adanya keseimbangan antara proses-proses metabolisme, yakni sintesis, transformasi dan penggunaan isi sel. Keseimbangan ini hilang segera setelah sel tumbuhan mati.

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengeringan. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pada pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari plastik. Selama proses pengeringan bahan simplisia, faktor-faktor tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh simplisia kering yang tidak mudah mengalami kerusakan. Tandanya simplisia sudah kering adalah mudah hancur bila diremas atau mudah patah. Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10%.

f. Sortasi kering

Simplisia yang telah kering tersebut masih sekali lagi dilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran, bahan organik asing, dan simplisia yang rusak karena sebagai akibat proses sebelumnya.

g. Pengepakan dan penyimpanan

Bahan pengepak harus sesuai dengan simplisia yang dipak. Misalnya simplisia yang mengandung minyak atsiri jangan dipak dalam wadah plastik, karena plastik akan menyerap bau bahan tersebut. Bahan pengepak yang baik adalah karung goni atau karung plastik. Simplisia yang ditempatkan dalam karung goni atau karung plastik praktis cara penyimpanannya, yaitu dengan ditumpuk. Selain itu, cara perlakuannya juga mudah serta cukup menjamin dan melindungi simplisia di dalamnya. Pengepak lainnya digunakan menurut keperluannya. Pengepak yang dibuat dari aluminium atau kaleng dan seng mudah lapuk, sehingga perlu dilapisi dengan plastik atau malam atau yang sejenis dengan itu. Penyimpanan harus teratur, rapi, untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, serta untuk memudahkan pengambilan, pemeriksaan, dan pemeliharannya. Simplisia diberi label yang mencantumkan identitas, kondisi, jumlah, mutu, dan cara penyimpanannya.

Adapun tempat atau gudang penyimpanan harus memenuhi syarat antara lain harus bersih, tertutup, sirkulasi udara baik, tidak lembab, penerangan cukup bila diperlukan, sinar matahari tidak boleh leluasa masuk ke dalam gudang, konstruksi dibuat sedemikian rupa sehingga serangga atau tikus tidak dapat leluasa masuk, tidak mudah banjir serta terdapat alas dari kayu yang baik (hati-hati karena balok kayu sangat disukai rayap) atau bahan lain untuk meletakkan simplisia yang sudah dipak tadi. Pengeluaran simplisia yang disimpan harus dilaksanakan dengan cara mendahulukan bahan yang disimpan lebih awal (*First in-First out*).

2.6 Tinjauan Ekstrak dan Ekstraksi

2.6.1 Definisi

Ekstrak adalah hasil dari pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana pelarut yang digunakan dilakukan penguapan hingga memperoleh ekstrak pekat. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak kental ataupun ekstrak kering. Sedangkan ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut (Marjoni, 2016).

Pada dasarnya proses ekstraksi merupakan proses berpindahannya massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Kemudian zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif baik dari dalam sel maupun dari luar sel. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuannya. Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar maupun sampel yang sudah dikeringkan (Marjoni, 2016).

2.6.2 Macam-macam Ekstraksi

a. Ekstraksi cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana dan sering digunakan karena metode ini sesuai dan baik untuk skala kecil maupun besar. Maserasi berasal dari bahasa latin yaitu "*macerare*" yang berarti merendam. Secara umum maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut selama kurun waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan. Maserasi biasanya dilakukan pada suhu 15°-20°C dalam waktu selama 3 sampai 5 hari sampai zat aktif larut (Marjoni, 2016).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu teknik yang dilakukan dengan mengalirkan atau melewatkan pelarut melalui serbuk simplisia yang terlebih dahulu dibasahi dalam waktu tertentu dengan menggunakan perkolator (Marjoni, 2016).

b. Ekstraksi cara panas

1. Reflukstasi

Refluks merupakan suatu proses ekstraksi dengan menggunakan suatu pelarut pada titik didihnya selama waktu tertentu dan pada waktu tertentu dengan adanya pendingin balik. Pada umumnya proses ini biasanya 3 sampai 5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga proses ini termasuk metode ekstraksi yang cukup sempurna (Marjoni, 2016).

2. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan proses ekstraksi panas yang dapat memisahkan suatu komponen dalam bahan padat dengan penyarian berulang-ulang menggunakan pelarut tertentu. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan suhu pada metode refluks (Marjoni, 2016).

3. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia menggunakan air pada suhu 90°C selama 15 menit sesekali dilakukan pengadukan kemudian disaring hingga memperoleh volume infus yang diinginkan (Marjoni, 2016).

4. Dekokta

Dekokta merupakan proses penyarian yang hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya pemanasan. Dekokta memerlukan pemanasan lebih lama dibandingkan dengan infusa yaitu memerlukan waktu sekitar 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini jarang digunakan proses penyariannya kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Marjoni, 2016).

5. Seduhan

Seduhan merupakan metode ekstraksi paling sederhana. Prosesnya hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu sekitar 5 sampai 10 menit (Marjoni, 2016).

6. Coque (penggodokan)

Coque atau penggodokan merupakan proses penyarian simplisia dengan cara menggodok menggunakan api secara langsung. Hasil dari proses ini dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk dengan ampasnya maupun tidak (Marjoni, 2016).

7. Digestasi

Digestasi merupakan proses ekstraksi yang memiliki cara kerja hampir sama dengan maserasi, hanya saja proses ini menggunakan pemanasan rendah yaitu pada suhu 30 - 40°C (Marjoni, 2016).

2.6.3 Pelarut

Menurut Suryani *et al.* (2016) Pemilihan jenis pelarut harus dapat mempertimbangkan beberapa faktor seperti selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Larutan pengekstraksi yang digunakan harus sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol.

2.7 Tinjauan Instrumen Spektrofotometri UV-Vis

2.7.1 Definisi

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur nilai absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut dengan kuvet. Kemudian sebagian dari cahaya tersebut nantinya akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Jati, 2018).

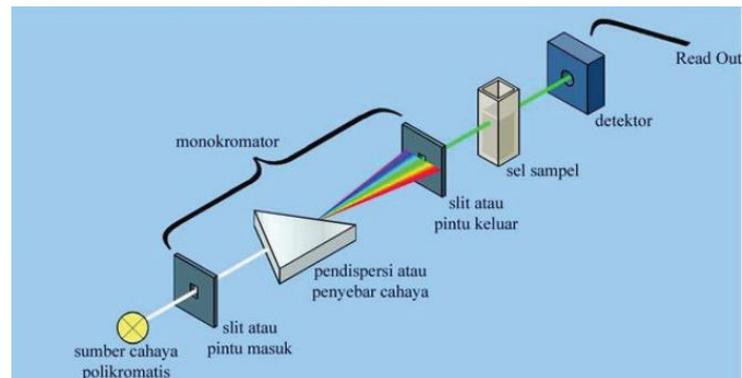
Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) memiliki panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) dengan panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Jati, 2018).

2.7.2 Jenis

Menurut Suhartati (2017) pada umumnya spektro UV-Vis terdiri dari dua jenis yaitu *single-beam* dan *double-beam*.

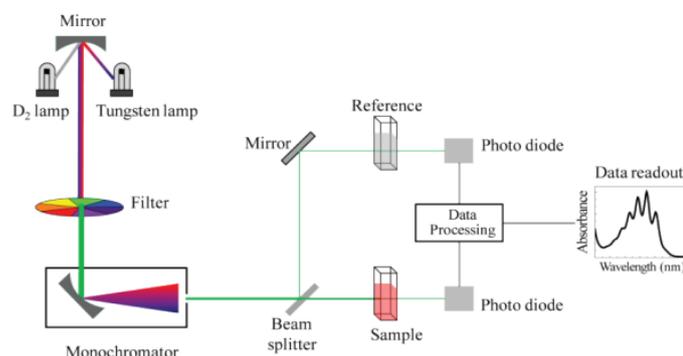
Single-beam instrument dapat digunakan untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal secara kuantitatif. *Single-beam instrument* ini

memiliki kelebihan yaitu harganya murah dan sederhana. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang terkecil adalah 190 sampai 210 nm dan tertinggi adalah 800 sampai 1000 nm.



Gambar 2.4 Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (*single beam*) (Suhartati, 2017)

Double-beam instrument memiliki dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin berbentuk V yang disebut dengan pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara bersamaan melewati sampel. *Double-beam instrument* dapat digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm.



Gambar 2.5 Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (*double beam*) (Suhartati, 2017)

2.7.3 Bagian-bagian

a. Sumber radiasi

Sumber radiasi berfungsi memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-Vis menggunakan lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 250 nm (Warono dan Syamsudin, 2013).

b. Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penghasil radiasi monokromatis yang diperoleh dengan cara dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar (Warono dan Syamsudin, 2013).

c. Sel dan kuvet

Sel atau kuvet merupakan tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca tembus sinar namun juga dapat terbuat dari plastik. Sel yang terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-Vis. Kuvet dari bahan kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena bahan kaca silikat dapat menyerap ultraviolet (Warono dan Syamsudin, 2013).

d. Fotosel

Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian akan disampaikan ke detektor. Detektor adalah material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya dalam bentuk lain, yaitu energi listrik (Warono dan Syamsudin, 2013).

e. Display atau tampilan

Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis (Warono dan Syamsudin, 2013).

2.7.4 Syarat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

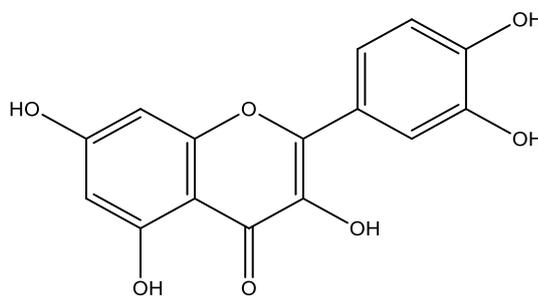
Spektrofotometri UV-Visibel dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel berupa gas, larutan ataupun uap. Pada umumnya sampel harus diubah terlebih dahulu menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel berupa larutan harus memperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang akan digunakan yaitu pelarut harus mampu melarutkan sampel dengan sempurna, pelarut yang digunakan tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang akan dianalisis serta memiliki kemurnian yang tinggi (Suhartati, 2017).

2.7.5 Pengujian In Vitro

Pengujian in vitro adalah suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan. Pada penelitian ini uji in vitro yang

digunakan yaitu metode DPPH. Evaluasi antioksidan menggunakan uji *in vitro* dipilih karena memiliki kelebihan yaitu cepat, dapat direproduksi dan hanya memerlukan senyawa kimia dalam jumlah kecil untuk dianalisis. Selain itu uji ini tidak dipengaruhi oleh sifat fisika kimia dari senyawa yang digunakan (Sanchez *et al.*, 2019).

2.7.6 Tinjauan Kuersetin



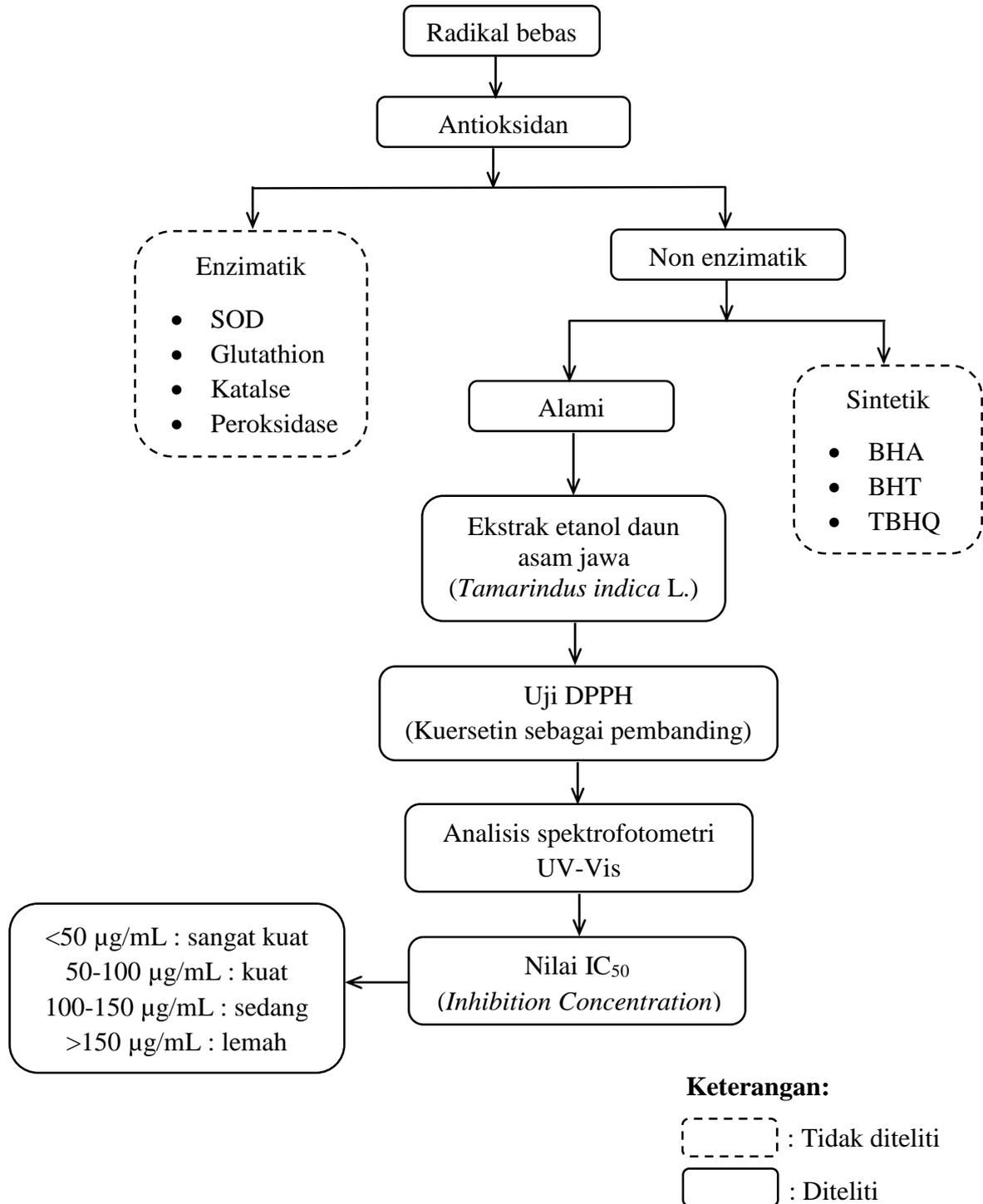
Gambar 2.6 Struktur kimia kuersetin

Kuersetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol memiliki nama 2-(3,4-dihidroksiphenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-1-benzopiran-4-one. Rumus dari senyawa ini adalah $C_{15}H_{12}O_7$ dengan bobot molekul 302,24. Senyawa tersebut merupakan bioflavonol yang terbentuk dari dua gugus benzene yang terikat pada cincin *heterocyclicpyrane*. Kuersetin berasal dari turunan flavonoid, yang merupakan antioksidan polifenol alami. Kuersetin merupakan flavonoid yang banyak terdapat di alam. Kuersetin merupakan glikosida alami dan mudah dihidrolisis. Kuersetin aglikon dibentuk oleh hidrolisis glikosida yang membuat kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sekitar dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan turunan flavonoid yang lain. Kuersetin sebagai antioksidan dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa penyakit degeneratif, dengan mencegah peroksidasi lemak. Kuersetin banyak digunakan karena mudah

diekstraksi, dipisahkan, dan diidentifikasi. Kuersetin biasanya dapat ditemukan dalam sayuran maupun buah-buahan dan dibentuk dalam bentuk glikosida dan polifenol. Flavonoid seperti kuersetin (terutama dalam bentuk glikosida kuersetin) adalah molekul flavonoid yang paling melimpah dan banyak ditemukan pada tumbuhan seperti biji-bijian, kacang-kacangan, bunga, kulit kayu dan daun (Yuslianti, 2017;Gayatri, 2021).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 kerangka konseptual

3.2 Hipotesis

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

H0 : tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun asam jawa dengan nilai inhibisi dibawah 0.

H1 : terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun asam jawa dengan nilai inhibisi diatas 0.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan desain penelitian eksperimen laboratorium yang dilakukan secara invitro dengan menggunakan metode DPPH (*Diphenyl-picylhydrizyl-radical*).

4.2 Populasi

Populasi merupakan keseluruhan dalam elemen yang memiliki sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk diteliti (Amirullah, 2015).

Populasi dalam penelitian ini adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang diperoleh dari kabupaten Bangkalan.

4.3 Sampel

Sampel merupakan suatu sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015).

Sampel pada penelitian ini menggunakan daun asam jawa segar yang diambil secara acak kemudian dijadikan ekstrak.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua laboratorium yaitu laboratorium kimia dan laboratorium biologi Universitas dr. Soebandi Jember. Penelitian ini dimulai pada bulan Juli sampai Agustus 2022.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} berdasarkan persen inhibisi.

4.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pembuatan simplisia, pelarut etanol 70% dan cara ekstraksi simplisia.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Pengertian	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Konsentrasi ekstrak etanol daun asam jawa	Daun asam jawa yang telah diekstrak dengan metode maserasi	Dilakukan pengenceran pada ekstrak daun asam jawa dengan	Gelas ukur dan pipet tetes	Rasio	Konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

<i>(Tamarindus indica L.)</i>	(perendaman) menggunakan etanol 70% selama 3x24 jam, kemudian dilanjutkan dengan menghitung konsentrasi larutan uji dalam satuan ppm.	rumus $V1.M1=V2.M2$			
Identifikasi senyawa metabolit sekunder	Identifikasi kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin dan saponin	Dilakukan menggunakan pereaksi dengan melihat adanya perubahan warna, endapan dan busa	Pipet tetes dan tabung reaksi	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Alkaloid = terbentuk endapan kuning jingga • Flavonoid = warna merah • Fenolik = warna hitam pekat • Tannin = warna hitam kehijauan • Saponin = terbentuk busa
IC ₅₀ (<i>Inhibition Concentration</i>)	IC ₅₀ merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal	IC ₅₀ dapat dihitung berdasarkan peredaman antara radikal	Spektro UV-Vis	Rasio	<ul style="list-style-type: none"> • Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 µg/mL

bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) ditandai dengan semakin kecil nilai IC ₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya.	DPPH dengan larutan sampel	<ul style="list-style-type: none"> • Kuat, Jika yang di dapat 50-100 µg/mL • Sedang, jika yang di dapat 101-150 µg/mL • Lemah, jika yang didapat >150 µg/mL
---	----------------------------	---

4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900i), timbangan analitik (Pioneer), alat-alat gelas, rotary evaporator, toples maserasi, ultrasonik, aluminium foil, tabung reaksi, spatula, kuvet disposable, vial, blender, penyaring, cawan penguap, batang pengaduk dan stopwatch.

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang diambil dari kabupaten Bangkalan, kertas saring, etanol 70%, etanol pa, kuersetin, senyawa DPPH, methanol, HCl, HgCl₂, FeCl₃, H₂SO₄ dan Aquadest.

4.7.2 Teknik Pengumpulan Data

a. Determinasi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Determinasi daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dilakukan di laboratorium tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan. Tujuan determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari (*Tamarindus indica* L.)

b. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Bahan uji daun Asam Jawa dipetik secara acak dari kabupaten Bangkalan, kemudian dilakukan sortasi basah yaitu pemisahan dari tanah, kerikil, daun yang telah rusak serta pengotor-pengotor lainnya, selanjutnya dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir. Bahan uji dikeringkan dengan cara diangin-anginkan agar terhindar dari sinar matahari langsung. Kemudian bahan uji dilakukan sortasi kering, yaitu dipisahkan dari benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia. Daun yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga terbentuk serbuk (Azis dan Ruslan, 2021).

c. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Pembuatan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dilakukan berdasarkan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sejumlah serbuk daun asam jawa kemudian dimasukkan dalam wadah, ditambahkan pelarut etanol 70% selama 3 hari, dan dilanjutkan dengan remaserasi sebanyak dua kali hingga memperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi bejana disimpan di tempat yang terlindung dari sinar matahari dan dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut dengan sempurna. Hasil maserasi yang terbentuk disaring

menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara residu dan filtrat. Filtrat dari hasil maserasi dan remaserasi digabung untuk dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat kemudian dihitung rendemennya dan dinyatakan dalam persen (Kurniasari, 2021).

d. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambah 2 mL HCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 2 tetes HgCl₂. Ekstrak positif mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna kuning jingga atau putih (Kurang dan Adang, 2018).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan metanol 4 mL kemudian dipanaskan. Filtrat kemudian ditambahkan H₂SO₄. Ekstrak positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah (Kurang dan Adang, 2018).

3. Uji Fenolik

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

4. Uji Tanin

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

ditambahkan FeCl_3 . Ekstrak positif mengandung tanin apabila terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Kurang dan Adang, 2018).

5. Uji Saponin

Sebanyak 1 mg sampel dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL air dan tambahkan 1 tetes HCl lalu dikocok selama 20 detik, diamati perubahan yang terjadi. Ekstrak positif mengandung saponin apabila terbentuk busa (tidak hilang selama 20 menit) (Kurang dan Adang, 2018).

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan etanol pa dalam labu ukur 100 mL kemudian di vortex hingga homogen (Handayani *et al.*, 2014).

2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Asam Jawa

Larutan uji ekstrak dibuat dengan menimbang ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol pa sambil diaduk hingga homogen kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL dan didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian ekstrak dilakukan pengenceran dengan memipet larutan induk dalam jumlah tertentu kemudian ditambahkan etanol pa hingga memperoleh konsentrasi dengan beberapa variasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm (Handayani *et al.*, 2014).

3. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin, dibuat dengan menimbang kuersetin sebanyak 2 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 20 mL ditambahkan etanol pa dikocok hingga homogen, dicukupkan dengan etanol pa sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi larutan kuersetin sebesar 100 ppm. Kemudian larutan uji pembanding dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm dengan dipipet sebanyak 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 20 mL ditambahkan etanol pa sampai tanda batas (Tejowati, 2021).

4. Penentuan Absorbansi DPPH

Untuk mengetahui seberapa besar nilai absorbansi DPPH, pada penelitian ini digunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Pengujian dilakukan dengan memipet 4 mL DPPH kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit pada ruangan yang gelap. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 400-800 nm (Handayani *et al.*, 2014).

5. Penentuan Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan dilakukan memipet 0,5 mL dari masing-masing larutan uji ekstrak dan kuersetin dengan konsentrasi tertentu, kemudian ditambahkan dengan 3,5 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 5 menit (Handayani *et al.*, 2014; Tejowati, 2021).

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) dan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 mL dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan Larutan Kuersetin dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm), kemudian ditambahkan dengan 3,5 mL larutan DPPH dan homogenkan. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. Pengujian larutan uji ekstrak dan kuersetin dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. (Handayani *et al.*, 2014).

7. Perhitungan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel. Untuk mengetahui % inhibisi dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{Blanko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{Blanko} = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel.

A_{Sampel} = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel.

Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan berupa nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration 50%*), yaitu konsentrasi sampel yang

dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dimasukkan kedalam aplikasi *Microsoft Excel*.

4.8 Analisis Data

Analisis data bertujuan untuk memperoleh penyajian data dan kesimpulan yang baik, data yang diperoleh dari penelitian masih mentah belum dapat memberikan informasi, maka diperlukan pengolahan data (Notoatmodjo, 2010).

Data pengamatan pada penelitian ini adalah analisis kuantitatif. Data kuantitatif berupa uji aktivitas antioksidan. Selanjutnya data hasil analisis aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian dideskripsikan hasilnya. Daya antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang didapatkan dari hubungan antara konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu x dengan % inhibisi sebagai sumbu y dan pengolahan data dilakukan menggunakan *Microsoft Excel*.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Determinasi dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L) dan mencegah adanya kesalahan dalam pemilihan sampel atau tanaman uji (Fidyasari, *et al.*, 2017). Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa daun asam jawa yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Tamarindus indica* L yang tergolong dalam suku *Caesalpiniaceae*. Hasil identifikasi daun asam jawa dapat dilihat pada (Lampiran 1).

5.2 Ekstraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Sebelum dilakukan proses ekstraksi pada sampel daun asam jawa (*Tamarindus indica* L), terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel yang diikuti dengan proses pencucian. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari. Setelah dikeringkan, sampel dihaluskan menggunakan blender hingga memperoleh serbuk halus (Lampiran 2). Serbuk halus yang telah diperoleh kemudian dilakukan proses ekstraksi maserasi dengan menimbang serbuk daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan dalam maserator, dan ditambahkan pelarut

etanol 70% sebanyak 3 liter. Serbuk dan pelarut di maserasi selama 3 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi 2 kali hingga diperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 44,26 gram dari 300 gram serbuk daun asam jawa dan diperoleh rendemen sebesar 14,75%. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada (Lampiran 2) dan Perhitungan hasil % rendemen dapat dilihat pada (Lampiran 3).

Tabel 5.1 Rendemen Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L).

Simplisia	Ekstrak Kental	Rendemen
300 gram	44,26 gram	14,75%

5.3 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Identifikasi senyawa metabolit sekunder merupakan identifikasi kualitatif pada ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang bertujuan untuk memastikan adanya zat aktif dalam sampel sehingga mempermudah proses pengujian aktivitas antioksidan. Hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.).

Senyawa	Pereaksi	Pustaka	Hasil	Ket
Alkaloid	Sampel 1mg + HCl 2mL → Disaring → Filtrat + HgCl ₂ 2 tetes	Terjadi endapan (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → keruh dan terdapat endapan kuning jingga	+
Flavonoid	Sampel 1mg + metanol 4mL → Dipanaskan → Filtrat + H ₂ SO ₄	Terjadi perubahan warna (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → merah gelap	+
Fenolik	Sampel 1mg + FeCl ₃ 1% 2 tetes	Terjadi perubahan warna (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → hitam pekat	+
Tanin	Sampel 1mg → 10mL aquadest (didihkan) → Disaring → filtrat + FeCl ₃	Terjadi perubahan warna (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → hitam kehijauan	+
Saponin	Sampel 1mg + aquadest 5mL + HCl 1 tetes	Terjadi pembentukan busa (Kurang & Adang, 2018)	Hijau → hijau dengan busa selama 20 detik	+

Keterangan:

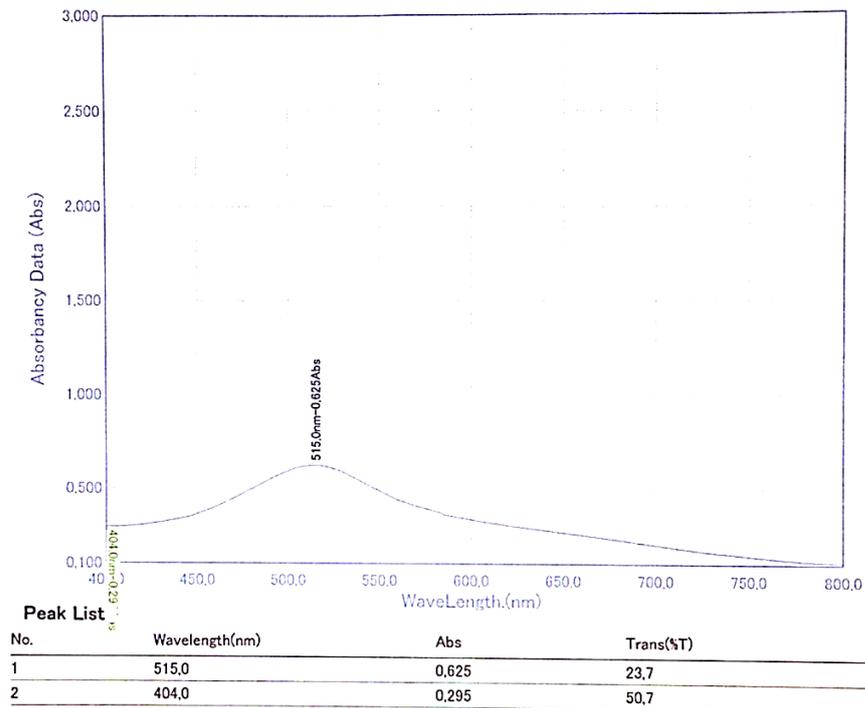
(+) = Mengandung zat aktif

(-) = Tidak mengandung zat aktif

5.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan

5.4.1 Penentuan Absorbansi Senyawa DPPH

Penentuan absorbansi senyawa DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan maksimum diperoleh hasil 0,625 pada panjang gelombang 515,0 nm.



Gambar 5.1 kurva absorbansi DPPH

5.4.2 Pengukuran Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Proses optimasi inkubasi dilakukan dengan memipet larutan kuersetin sebanyak 0,5 mL pada konsentrasi tertentu kemudian ditambahkan dengan 3,5 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 515 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 5 menit. Hasil dari uji optimasi waktu inkubasi kuersetin diperoleh waktu terbaik pada menit 30 dengan melihat absorbansi yang mulai stabil dan tidak berubah signifikan. Hasil absorbansi dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin

Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin					
Sampel	Menit	Absorbansi			\bar{x} Absorbansi
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
DPPH		0,443			
Kuersetin	0	0,106	0,125	0,114	0,115
	5	0,107	0,122	0,115	0,115
	10	0,103	0,119	0,112	0,111
	15	0,102	0,111	0,107	0,107
	20	0,101	0,118	0,108	0,109
	25	0,098	0,117	0,104	0,106
	30	0,094	0,118	0,102	0,105
	35	0,093	0,125	0,099	0,106
	40	0,092	0,127	0,098	0,106
	45	0,090	0,127	0,095	0,104
	50	0,088	0,125	0,092	0,102
	55	0,083	0,122	0,087	0,097
	60	0,079	0,119	0,083	0,094

Proses optimasi inkubasi dilakukan dengan memipet larutan ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) sebanyak 0,5 mL pada konsentrasi tertentu kemudian ditambahkan dengan 3,5 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 515 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 5 menit. Hasil dari uji optimasi waktu inkubasi ekstrak daun sama jawa (*Tamarindus indica* L) diperoleh waktu terbaik pada menit 15 dengan melihat absorbansi yang mulai stabil dan tidak berubah signifikan. Hasil absorbansi dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Hasil Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak					
Sampel	Menit	Absorbansi			\bar{x}
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Absorbansi
DPPH		0,443			
	0	0,207	0,200	0,199	0,202
	5	0,184	0,184	0,183	0,184
	10	0,169	0,171	0,170	0,170
	15	0,157	0,161	0,160	0,159
	20	0,146	0,152	0,150	0,149
Ekstrak	25	0,139	0,145	0,143	0,142
Daun	30	0,131	0,138	0,136	0,135
Asam	35	0,123	0,130	0,128	0,127
Jawa	40	0,117	0,124	0,123	0,121
	45	0,109	0,118	0,115	0,114
	50	0,104	0,112	0,110	0,109
	55	0,099	0,107	0,105	0,104
	60	0,093	0,102	0,100	0,098

5.4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan Kuersetin dan Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dilakukan dengan memipet 0,5 mL larutan kuersetin pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm kemudian ditambahkan 3,5 mL DPPH. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi selama 30 menit sesuai dengan hasil optimasi waktu dan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengujian dihitung untuk memperoleh nilai % inhibisi dari berbagai konsentrasi dengan memasukkan hasil pada rumus. Absorbansi kuersetin yang telah didapat dan telah hitung nilai % inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Kuerstin

Kuersetin			
Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi
	Blanko	0,554	
R1	5	0,354	36,101
	10	0,342	38,267
	15	0,318	42,599
	20	0,290	47,653
	25	0,244	55,957
R2	5	0,344	37,906
	10	0,326	41,155
	15	0,308	44,404
	20	0,279	49,639
	25	0,231	58,303
R3	5	0,335	39,531
	10	0,321	42,058
	15	0,307	44,585
	20	0,268	51,625
	25	0,225	59,386

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dilakukan dengan memipet 0,5 mL larutan ekstrak pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm kemudian ditambahkan 3,5 mL DPPH. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi selama 15 menit sesuai dengan hasil optimasi waktu dan diukur pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengujian dihitung untuk memperoleh nilai %

inhibisi dari berbagai konsentrasi dengan memasukkan hasil pada rumus. Absorbansi ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang telah didapat dan telah hitung nilai % inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L).

Ekstrak Daun Asam Jawa			
Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi
	Blanko	0,585	
R1	50	0,362	38,120
	100	0,317	45,812
	150	0,289	50,598
	200	0,271	53,675
	250	0,244	58,291
R2	50	0,359	38,632
	100	0,309	47,179
	150	0,280	52,137
	200	0,261	55,385
	250	0,233	60,171
R3	50	0,357	38,974
	100	0,307	47,521
	150	0,271	53,675
	200	0,256	56,239
	250	0,225	61,538

Nilai IC_{50} dari masing-masing konsentrasi dapat diperoleh dengan menggunakan rumus persamaan regresi linear, dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Persamaan $y = bx + a$ untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50 - a)/b$. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat dengan rentan nilai 50 $\mu\text{g/mL}$ - 100 $\mu\text{g/mL}$, sedang

dengan rentan nilai 100 $\mu\text{g/mL}$ - 150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah jika nilai lebih dari 150 $\mu\text{g/mL}$. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan (Agustina *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada DPPH yaitu dari ungu berubah menjadi kuning jika terdapat aktivitas antioksidan (Zuraida, *et al.*, 2017). Hasil analisis nilai IC_{50} kuersetin dan ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Analisis Nilai IC_{50}

Kuersetin				
Replikasi	IC_{50}	$\bar{x} \text{IC}_{50} \pm \text{SD}$	RSD	Kategori
1	20,9			
2	18,8	$19,1 \pm 1,67$	8,75%	Sangat kuat
3	17,6			
Ekstrak etanol daun asam jawa				
1	157,3			
2	143,1	$145,206 \pm 11,19$	7,71%	Sedang
3	135,2			

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 5.7, dapat diketahui bahwa kuersetin mempunyai nilai rata-rata IC_{50} sebesar $19,1 \pm 1,67 \mu\text{g/mL}$ (Lampiran 9). Nilai yang diperoleh dapat diartikan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas kuersetin termasuk dalam golongan sangat kuat. Nilai RSD yang didapat dari pengujian kuersetin yaitu 8,75% yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al.*, 2016).

Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan lebih lemah dibandingkan kuersetin yang digunakan sebagai pembanding. Hal ini bisa dibuktikan dari nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun asam jawa

(*Tamarindus indica* L) yang diperoleh mempunyai nilai rata-rata sebesar $145,206 \pm 11,19 \mu\text{g/mL}$ (Lampiran 9). Nilai RSD yang didapat dari pengujian ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yaitu 7,71% yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al.*, 2016).

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi kemudian dilakukan perhitungan nilai rendemen. Rendemen adalah suatu nilai berat ekstrak kental yang didapat dibandingkan dengan berat simplisia yang digunakan (Wahyuni dan Anggelina, 2021). Penentuan nilai persen rendemen bertujuan untuk mengetahui perbandingan hasil ekstrak terhadap simplisia yang dihasilkan. Ekstrak kental daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang diperoleh sebanyak 44,26 gram dari 300 gram simplisia daun asam jawa (rendemen 14,75%).

Ekstrak selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan identifikasi kualitatif pada ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang bertujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing sampel dan memastikan adanya zat aktif dalam sampel sehingga mempermudah proses pengujian aktivitas antioksidan (Nainggolan, *et al.*, 2019). Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin pada daun asam jawa yang merupakan senyawa antioksidan.

Aktivitas antioksidan yang terdapat dalam daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) kemungkinan dapat dipengaruhi dengan adanya senyawa yang mampu

mendonorkan elektron pada radikal DPPH. Senyawa alkaloid mengandung satu atau lebih senyawa nitrogen pada bagian cincin heterosiklik. Alkaloid memiliki efek antioksidan melalui aktivitasnya sebagai *scavenger*. Gugus indol pada senyawa alkaloid, mampu menghentikan reaksi berantai radikal bebas secara efisien (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Sebagai antioksidan, alkaloid mampu melindungi sel dari toksisitas dan kerusakan genetik akibat oksidan H_2O_2 (Andiriyani, 2014). Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas beberapa enzim (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Senyawa polifenol bersifat multifungsi dan berperan sebagai antioksidan karena dapat menghambat enzim atau mengikat ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas. Penelitian Yuhernita dan Juniarti (2011) menunjukkan bahwa senyawa fenolik berperan sebagai antioksidan dengan kemampuannya menyumbangkan hydrogen. Polifenol dapat menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan sehingga reaksi oksidasi menjadi terhambat. Tanin merupakan senyawa bioaktif golongan polifenol. Gugus -OH pada tanin mampu berfungsi sebagai antioksidan karena dapat meredam radikal bebas superoksida (O_2^-), hidroksil, peroksil (ROO^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksigen nitrit (NO^-), dan peroksinitrit ($ONOO^-$) yang terdapat di dalam tubuh. Hasil penelitian Aripasha, *et al.* (2015) menyatakan bahwa tanin berperan

sebagai *scavenger hydrogen peroxide* (H^2O^2) sehingga H^2O^2 tidak bereaksi lebih lanjut menjadi radikal hidroksil (OH^-) dan peroksidasi lipid. Saponin adalah golongan senyawa glikosida, dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih bila dikocok. Saponin memberikan rasa pahit menusuk. Saponin bersifat iritator pada selaput lendir, sehingga memunculkan respon bersin. Saponin merupakan antioksidan sekunder, mampu menghambat peroksidasi lipid dengan cara membentuk hidroperoksida. Saponin berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme peningkatan pembentukan SOD dan katalase (Aripasha, *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil yang didapatkan peneliti berasumsi bahwa kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun asam jawa mendapatkan hasil yang sama dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Tunny, *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa daun asam jawa mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin sebagai antioksidan.

6.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan melihat nilai IC_{50} yang diperoleh. Langkah awal yang dilakukan yaitu mengukur panjang gelombang DPPH. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini DPPH memiliki nilai absorbansi 0,625 dengan panjang gelombang 515 nm. Hasil tersebut berbeda dengan teori yang digunakan. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tunny, *et al.* (2020) menyatakan bahwa panjang gelombang DPPH yaitu 517

nm. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan pelarut serta penggunaan alat yang berbeda (Handayani, *et al.*, 2014).

Optimasi waktu inkubasi dilakukan setelah penentuan panjang gelombang. Proses optimasi waktu inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan oleh DPPH untuk bereaksi sempurna dengan larutan. Waktu yang ditetapkan ditunjukkan dengan absorbansi yang mulai stabil atau tidak berubah signifikan uji (Wulandari, *et al.*, 2020). Pengukuran absorbansi dimulai dari menit 0 hingga 60 dengan selang waktu 5 menit (Wulandari, *et al.*, 2020). Hasil dari waktu inkubasi menunjukkan bahwa kuersetin mulai memberikan absorbansi yang stabil pada menit ke 30 hal ini berbeda dengan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang memberikan absorbansi stabil pada menit 15 (Wulandari, *et al.*, 2020). Optimasi waktu yang didapatkan selanjutnya dapat digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan terhadap kuersetin dan ekstrak.

Nilai absorbansi ekstrak dan kuersetin pada tabel 5.5 dan 5.6 digunakan untuk menghitung persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Pada pengujian ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) diperoleh hasil perhitungan rata-rata persen inhibisi pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm berturut-turut sebesar 38,6%, 46,8%, 52,1%, 55,1%, 60%. Sedangkan nilai % inhibisi kuersetin pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm berturut-turut sebesar 37,8%, 40,5%, 43,9%, 49,6% 57,9%. Nilai persen inhibisi yang diperoleh supaya didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} dapat dilakukan dengan cara memasukkan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai % inhibisi sebagai sumbu y yang

diolah menggunakan *Microsoft Excel* hingga diperoleh persamaan regresi $y = bx + a$.

Nilai IC_{50} yang didapatkan untuk ekstrak yaitu $145,206 \pm 11,19 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan tingkat sedang dengan nilai RSD 7,71% yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al.*, 2016). Senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) sudah cukup baik dalam menghambat kerja radikal bebas DPPH, namun dalam konsentrasi kecil ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) belum dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas dalam DPPH. Didukung oleh penelitian Tunny, *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) dengan nilai $143,278 \mu\text{g/mL}$ 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 besar dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Tunny, *et al.* (2020). Hal ini dikarenakan pada penelitian ini menggunakan sampel yang diambil di Bangkalan, dimana suhu di Bangkalan berkisar antara $22,5 - 37^{\circ}\text{C}$ (Miranti, *et al.*, 2015).

Nilai IC_{50} yang didapatkan untuk kuersetin yaitu $19,1 \pm 1,67 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat dengan nilai RSD 8,75% yang tergolong baik, karena syarat nilai RSD yaitu $\leq 16\%$ (Pratiwi, *et al.*, 2016). Kuersetin mempunyai aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi dibandingkan 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). Pada keadaan ini dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) dan kuersetin memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas. Hal ini terlihat dari kemampuan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) dalam mereduksi senyawa radikal bebas dalam DPPH pada penelitian ini kurang stabil dan kurang optimal sedangkan kemampuan kuersetin dalam mereduksi senyawa radikal bebas dalam DPPH pada penelitian ini yaitu optimal.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin dan saponin.
2. Nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yaitu $145,206 \pm 11,19 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan sedang sedangkan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar $19,1 \pm 1,67 \mu\text{g/mL}$.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) menggunakan metode lain secara in vivo.
2. Perlu dilakukan pengujian kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L).
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) menggunakan pelarut lain.
4. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan membandingkan daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) yang muda dan tua.

5. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) diberbagai daerah.
6. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L) pada bagian lain tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianta, K. A. (2020) ‘Aktivitas Antioksidan Daun Magenta (*Peristrophe bivalvis* (L.) Merr) Sebagai Salah Satu Kandidat Pengobatan Bahan Berbasis Herbal Serta Bioaktivitasnya’, *jurnal ilmiah medicamento*, 6(1), pp. 33–39.
- Agustina, E., Andiarna, F. and Hidayati, I. (2020) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan’, *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 13(1), pp. 39–50. doi: 10.15408/kaunyah.v13i1.12114.
- Amirullah. (2015). *Metode Penelitian Manajemen*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Andiriyani, M. M. (2014) ‘Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok’. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura.
- Anggara, A. F., Wirasti and Urwatul Waznah (2021) ‘Uji Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Metanol dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara Invitro’, *Jurnal Famasi Klinis dan Sains Bahan Alam*, 1(1), pp. 16–20.
- Arifianti, L. *et al.* (2014) ‘Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth’, *E-Journal Planta Husada*, 2(1), pp. 3–6.
- Aripasha, A., Andriana, D. and Purnomo, Y. (2015) ‘Efek Dekok Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Sod (Superoxyde dismutase) dan MDA (

- Malondialdehyde) Serum Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe II', *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 3(1).
- Azis, A. and Ruslan, A. A. S. (2021) 'Uji Efektivitas Penurunan Gula Darah Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L) Terhadap Mencit (*Mus musculus*)', *Jurnal Kesehatan Yamasi Makasar*, 5(2), pp. 1–7.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. 2013. Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI No. 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.
- Citta, E. P. N. (2019) 'Eksplorasi Senyawa Antioksidan Pada Moluska', *skripsi*. Universitas Katholik Soegijapranata Semarang.
- Dominica, D. and Handayani, D. (2019) 'Formulasi dan Evaluasi Sediaan Lotion dari Ekstrak Daun Lengkek (*Dimocarpus Longan*) sebagai Antioksidan', *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(1), p. 1. doi: 10.20473/jfiki.v6i12019.1-7.
- Erawati (2012) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garciniadaedalanthera* Pierre Dengan Metode DPPH (1,1-difenil pikrilhidrazil) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif', *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Erlangga, S. (2017) 'Analisis cemaran mikroba pada sampel simplisia sambiloto, temulawak dan kunyit di tiga tempat penjualan simplisia di purbalingga', *skripsi*. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Fakriah *et al.* (2019) 'Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan

- Alami Bagi Kesehatan’, *Jurnal Vokasi*, 3(1), p. 1. doi: 10.30811/vokasi.v3i1.960.
- Faradiba, D. (2016) ‘Daya Antibakteri Infusa Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn) terhadap *Streptococcus mutans*’, *Pustaka Kesehatan*, 4(1), pp. 55–60.
- Febriyenti *et al.* (2018) ‘Karakterisasi dan Studi Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Secang (*Caesalpinia sappan* L.)’, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(1), pp. 23–27.
- Fidyasari, A., Sari, R. M. and Raharjo, S. J. (2017) ‘Identifikasi Komponen Kimia Pada Umbi Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Sebagai Pangan Fungsional’, *Research Study*, pp. 14–21. doi: 10.20473/amnt.v1i1.2017.14-21.
- Fitria, D. A. (2021). ‘Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Vaksin Dpt Hb’. Skripsi. Universitas Wahid Hasyim.
- Francenia Santos-Sánchez, N. *et al.* (2019) ‘Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism’, *Journal Antioxidants*, pp. 1–28. doi: 10.5772/intechopen.85270.
- Gayatri, W. N. (2021) ‘Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Dan Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia Macrophylla* King) Menggunakan Metode DPPH’, *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H. and Yunianita (2016) ‘Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan

- Lama Ekstraksi)', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), pp. 262–272.
- Handayani, S., Kurniawati, I. and 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*, 6(1), pp. 141–150. doi: 10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15022.
- Handayani, V. *et al.* (2014) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Abstrak', *Pharm Sci Res*, 1(2), pp. 86–93.
- Hariana, H. (2013). *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jati, A. R. (2018) 'Perbedaan Kadar Total Protein Berdasarkan Penggunaan Kuvet Dan Tabung Reaksi Baru', *Manuscript*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Kartikawati, E., Deswati, D. A. and Pramudita, B. (2020) 'Uji efek analgetik ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) pada mencit putih jantan galur swiss webster', *Jurnal Sabdariffarma*, 1(2), pp. 11–18.
- Kemkes RI. (2015). 'Situasi Penyakit Kanker'. [pdf] Jakarta: Pusat Data dan Informasi. Available at: <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-kanker.pdf> [9 desember 2021]
- Kurang, R. Y. and Adang, B. (2018) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrylhidrazyl (DPPH)', *Partner*, 23(1), p. 567. doi: 10.35726/jp.v23i1.299.

- Kurnia, N., Jumadi, O. and Hiola, S. F. (2014) *Atlas Tumbuhan Sulawesi Selatan*.
- Kurniasari, M. (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Polar Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*', *Skripsi*. Universitas Jendral Achmad Yani Yogyakarta.
- Labola, Y. A. and Puspita, D. (2018) 'Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit', *Jurnal Farmasetika*, 2(5), p. 12. doi: 10.24198/farmasetika.v2i2.13668.
- Lung, J. P. . and Destiani, D. . (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH', *Jurnal Farmaka*, 15(1), pp. 53–62.
- Marjoni, M. R. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III*. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Miranti, A. K., Isworo, M. G. and Supriyadi, A. (2015) 'Diversitas Kapang Serasah Daun Talok (*Muntingia calabura* L .) Di Kawasan Desa Sukolilo Barat , Kecamatan Labang , Kabupaten Bangkalan , Madura', *Jurnal Bioma*, 16(2), pp. 58–64.
- Nainggolan, M. *et al.* (2019) *Penuntun dan Laporan Praktikum Fitokimia*. Universitas Sumatera Utara.
- Nurhayati, Mulyani, S. and Efendy, N. T. (2019) 'Uji aktivitas fraksi daun asam jawa terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus putih jantan', *Farmakologika Jurnal Farmasi*, XVI(1).
- Notoatmodjo, S. (2010). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Pardede, A. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Buah Senduduk

- Bulu (Clidemiahirta [L.] D. Don.) Dengan Metode Pemerangkapan DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhidrazyl)', *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara Medan.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Pisoschi, A. M. and Negulescu, G. P. (2012) 'Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review', *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01), pp. 1–10. doi: 10.4172/2161-1009.1000106.
- 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.
- Puspasari, F. (2014) 'Pemanfaatan Biji Asam Jawa (Tamarindus Indica) Sebagai Koagulan Alternatif Dalam Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu', *Laporan Akhir*. Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Putri, C. R. H. (2017) 'The Potency and Use of Tamarindus indica on Various Therapies', *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 3(2), p. 40. doi: 10.30742/jikw.v3i2.22.
- Rahmadani, D. and Nasution, H. M. (2021) 'Potensi Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi N-Heksana Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Jawa (Tamarindus

- indica L.) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas’, *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 1(1), pp. 28–37.
- Ramadhan, P. (2015). *Mengenal Antioksidan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Rasyadi, Y. (2021) ‘Formulasi Lip Balm Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack)) Dan Uji Stabilitas Menggunakan Metode Freeze And Thaw’, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(2), pp. 54–61.
- Risfianty, D. K. I. I. S. (2021) ‘Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Tua Dan Muda Dengan Metode DPPH’, *Jurnal Inovasi Pendidikan dan Sains*, 2(2), pp. 55–57.
- Rustini, N. L. N. K. A. (2017) ‘Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff)’, *Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry*, 5, pp. 145–151.
- Sadeer, N. B. *et al.* (2020) ‘The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations’, *Journal Antioxidants*, 9(8), pp. 1–39. doi: 10.3390/antiox9080709.
- Sari, M. *et al.* (2021) ‘Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (*Coccinia grandis* L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar’, *Jurnal Riset Kimia*, 7(1), pp. 30–41. doi: 10.22487/kovalen.2021.v7.i1.15437.
- Suhartati, T. (2017) *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Gedongmeneng: Bandar Lampung.
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M. and Jambe, A. A. G. N. A. (2016) ‘Pengaruh

- Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Nyoman', 5(1), p. 381.
doi: 10.11164/jjsps.5.2_381_2.
- Tejowati, H. Z. P. (2021) 'Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Di Kabupaten Jombang Dengan Menggunakan Metode DPPH', *Skripsi*. Universitas Jember.
- Tunny, R., Mahulauw, M. A. H. and Darmanta, K. (2020) 'Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat', *2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10(1), pp. 1–5.
- Utomo, D. S., Kristiani, E. B. E. and Mahardika, A. (2020) 'Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid , Fenolik , Klorofil , Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*)', *bioma*, 22(2), pp. 143–149.
- Violita, aldita husna (2020) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Kadar TNF- α Tikus setelah Paparan Asap Rokok', *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Wahyuni, Y. S. and Anggelina, S. (2021) 'Penetapan Kadar Senyawa Terlarut Dalam Pelarut Etanol Dan Kadar Air Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Sebagai Parameter Spesifik Dan Non Spesifik', *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 5(1), pp. 105–111.
- Warono, D. and Syamsudin (2013) 'Analisis Kimia Kuantitatif. Ed ke-5', *Konversi*, 2(2), pp. 57–65.

- Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68.
- Wijaya, D. P., Paendong, J. E. and Abidjulu, J. (2014) 'Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)', *Jurnal MIPA*, 3(1), p. 11. doi: 10.35799/jm.3.1.2014.3899.
- Wulandari, L., Nugraha, A. S. and Azhari, N. P. (2020) 'Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell . Arg .) secara In Vitro', *jurnal sains farmasi dan klinis*, 7(1), pp. 60–66. doi: 10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020.
- Wulansari, A. N. (2018) 'Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review', *Farmaka*, 16(2), pp. 419–429.
- Yuhernita and Juniarti (2011) 'Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan', *Makara, Sains*, 15(1), pp. 48–52.
- Yulianingtyas, A. and Kusmartono, B. (2016) 'Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.)', *Teknik Kimia*, 10(2), pp. 58–64.
- Zuraida *et al.* (2017) 'Fenol , Flavonoid , Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br)', *Jural Penelitian Hasil Hutan*, 35(3), pp. 211–219. doi: 10.20886/jphh.2017.35.3.211-219.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-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: 035/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 418/FIKES.UDS/U/II/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Lutfia Ulfa Melina
NIM : 18040054
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Rissidae; Ordo: Fabales; Famili: Caesalpinaceae; Genus: Tamarindus; Spesies: Tamarindus indica, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Februari 2022
UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Bud P Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Dokumentasi penelitian



Pengumpulan daun asam jawa



Sortasi basah



Pencucian



Pengeringan



Penghalusan



Proses ekstraksi



Pengentalan ekstrak



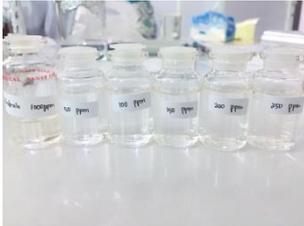
Hasil Ekstrak



Sampel pengujian optimasi inkubasi



Larutan kuersetin untuk pengujian antioksidan



Larutan ekstrak untuk pengujian antioksidan

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

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

$$\text{Rendemen} = \frac{44,26 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 14,75\%$$

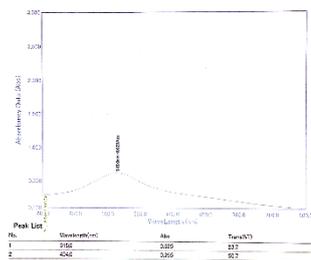
Lampiran 4. Skrining fitokimia



Lampiran 5.



Gambar instrument spektrofotometri UV-Vis



Grafik panjang gelombang DPPH (50 ppm)

Lampiran 6. Perhitungan larutan dan hasil absorbansi optimasi inkubasi

- Perhitungan larutan DPPH

$$5 \text{ mg DPPH dilarutkan pada } 100 \text{ mL etanol pa} = \frac{5 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL/L}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 50 \text{ ppm}$$

- Perhitungan sampel ekstrak daun asam jawa

$$\text{Larutan induk} = 10 \text{ mg ekstrak dilarutkan pada etanol pa } 10 \text{ mL}$$

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

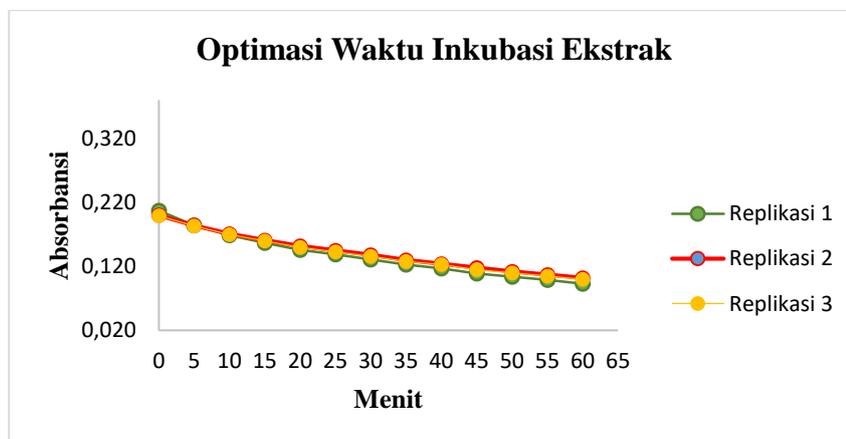
$$= 1000 \text{ ppm}$$

Kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 100 ppm

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

- **Data absorbansi optimasi waktu yang dihasilkan spektrofotometri UV-Vis untuk ekstrak dari menit ke-0 sampai ke-60**

Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak					
Sampel	Menit	Absorbansi			\bar{x} Absorbansi
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
DPPH		0,443			
	0	0,207	0,200	0,199	0,202
	5	0,184	0,184	0,183	0,184
	10	0,169	0,171	0,170	0,170
	15	0,157	0,161	0,160	0,159
	20	0,146	0,152	0,150	0,149
Ekstrak	25	0,139	0,145	0,143	0,142
Daun	30	0,131	0,138	0,136	0,135
Asam	35	0,123	0,130	0,128	0,127
Jawa	40	0,117	0,124	0,123	0,121
	45	0,109	0,118	0,115	0,114
	50	0,104	0,112	0,110	0,109
	55	0,099	0,107	0,105	0,104
	60	0,093	0,102	0,100	0,098



- **Perhitungan larutan kuersetin**

Larutan induk = 2 mg kuersetin dilarutkan dalam etanol pa 20 mL

$$= \frac{2 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL/L}}{20 \text{ mL}}$$

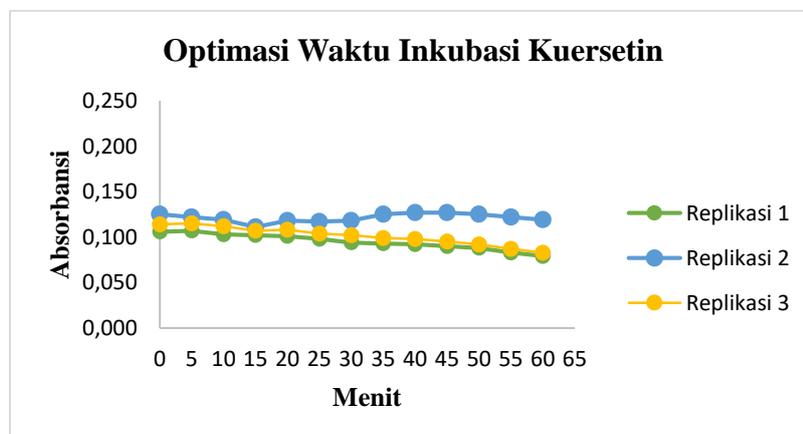
$$= 100 \text{ ppm}$$

Kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 5 ppm

$$5 \text{ ppm} = \frac{5 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

- **Data absorbansi optimasi waktu yang dihasilkan spektrofotometri UV-Vis untuk kuersetin dari menit ke-0 sampai ke-60**

Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin					
Sampel	Menit	Absorbansi			\bar{x} Absorbansi
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
DPPH			0,449		
	0	0,106	0,125	0,114	0,115
	5	0,107	0,122	0,115	0,115
	10	0,103	0,119	0,112	0,111
	15	0,102	0,111	0,107	0,107
	20	0,101	0,118	0,108	0,109
	25	0,098	0,117	0,104	0,106
Kuersetin	30	0,094	0,118	0,102	0,105
	35	0,093	0,125	0,099	0,106
	40	0,092	0,127	0,098	0,106
	45	0,09	0,127	0,095	0,104
	50	0,088	0,125	0,092	0,102
	55	0,083	0,122	0,087	0,097
	60	0,079	0,119	0,083	0,094



Lampiran 7. Perhitungan larutan dan hasil absorbansi uji antioksidan

- Perhitungan sampel ekstrak daun asam jawa

Dari larutan induk ekstrak daun asam jawa 1000 ppm, diencerkan hingga memperoleh berbagai konsentrasi

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

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

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

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

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

- Data absorbansi uji antioksidan yang dihasilkan spektrofotometri UV-Vis untuk ekstrak daun asam jawa pada menit 15

Replikasi 1		
konsentrasi	blanko	absorbansi
50	0,585	0,362
100	0,585	0,317
150	0,585	0,289
200	0,585	0,271
250	0,585	0,244
Replikasi 2		
50	0,585	0,359
100	0,585	0,309
150	0,585	0,28
200	0,585	0,261
250	0,585	0,233

Replikasi 3

50	0,585	0,357
100	0,585	0,307
150	0,585	0,271
200	0,585	0,256
250	0,585	0,225

- **Perhitungan larutan kuersetin**

Dari larutan induk kuersetin 100 ppm, diencerkan hingga memperoleh berbagai konsentrasi

$$5 \text{ ppm} = \frac{5 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{15 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 3 \text{ mL}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 4 \text{ mL}$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 5 \text{ mL}$$

- **Data absorbansi uji antioksidan yang dihasilkan spektrofotometri UV-Vis untuk kuersetin pada menit 30**

Replikasi 1		
konsentrasi	blanko	absorbansi
5	0,554	0,354
10	0,554	0,342
15	0,554	0,318
20	0,554	0,290
25	0,554	0,244

Replikasi 2		
5	0,554	0,344
10	0,554	0,326
15	0,554	0,308
20	0,554	0,279
25	0,554	0,231
Replikasi 3		
5	0,554	0,335
10	0,554	0,321
15	0,554	0,307
20	0,554	0,268
25	0,554	0,225

Lampiran 8. Perhitungan % Inhibisi Uji Antioksidan

- Perhitungan % Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)

Replikasi 1:

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,362}{0,585} \times 100\% = 38,120\%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,317}{0,585} \times 100\% = 45,812\%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,289}{0,585} \times 100\% = 50,598\%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,271}{0,585} \times 100\% = 53,675\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,244}{0,585} \times 100\% = 58,291\%$$

Replikasi 2:

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,359}{0,585} \times 100\% = 38,632\%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,309}{0,585} \times 100\% = 47,179\%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,280}{0,585} \times 100\% = 52,137\%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,261}{0,585} \times 100\% = 55,385\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,233}{0,585} \times 100\% = 60,171\%$$

Replikasi 3:

$$50 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,357}{0,585} \times 100\% = 38,974\%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,307}{0,585} \times 100\% = 47,521\%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,271}{0,585} \times 100\% = 53,675\%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,256}{0,585} \times 100\% = 56,239\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{0,585-0,225}{0,585} \times 100\% = 61,538\%$$

- Perhitungan % Inhibisi Kuersetin

Replikasi 1:

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,354}{0,554} \times 100\% = 36,101\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,342}{0,554} \times 100\% = 38,267\%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,318}{0,554} \times 100\% = 42,599\%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,290}{0,554} \times 100\% = 47,653\%$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,244}{0,554} \times 100\% = 55,957\%$$

Replikasi 2:

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,344}{0,554} \times 100\% = 37,906\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,326}{0,554} \times 100\% = 41,155\%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,308}{0,554} \times 100\% = 44,404\%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,279}{0,554} \times 100\% = 49,639\%$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,231}{0,554} \times 100\% = 58,303\%$$

Replikasi 3:

$$5 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,335}{0,554} \times 100\% = 39,531\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,321}{0,554} \times 100\% = 42,058\%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,307}{0,554} \times 100\% = 44,585\%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,268}{0,554} \times 100\% = 51,625\%$$

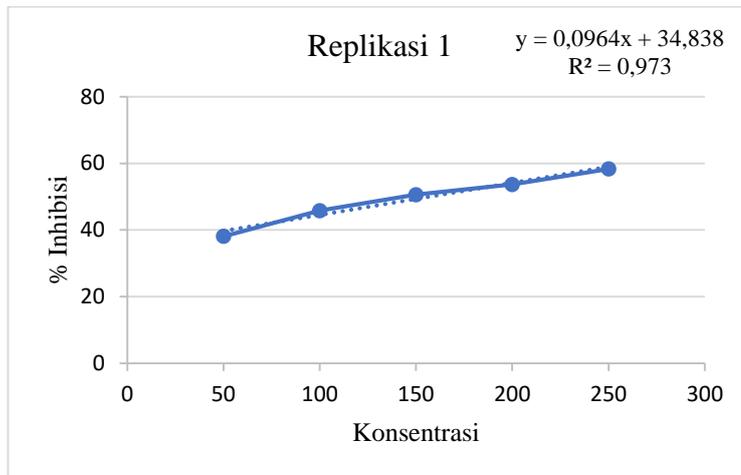
$$25 \text{ ppm} = \frac{0,554-0,225}{0,554} \times 100\% = 59,386\%$$

Lampiran 9. Perhitungan IC50 pengujian antioksidan Etanol Daun Asam

Jawa (*Tamarindus indica* L) dan kuersetin

- **Perhitungan IC50 Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L)**

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50	38,120
100	45,812
150	50,598
200	53,675
250	58,291



$$a = 34,838 \quad b = 0,0964 \quad r = 0,973$$

Pers. Garis $y = bx + a$

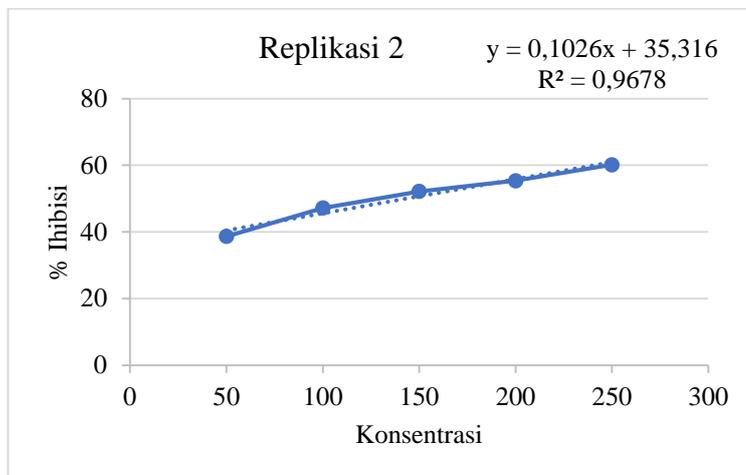
$$= 0,0964x + 34,838$$

IC50 = 50% Peredaman

Jika $y = 50$ maka, $50 = 0,0964x + 34,838$

$$X = 157,3 \mu\text{g/mL (Lemah)}$$

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50	38,632
100	47,179
150	52,137
200	55,385
250	60,171



$$a = 35,316 \quad b = 0,1026 \quad r = 0,9678$$

Pers. Garis $y = bx + a$

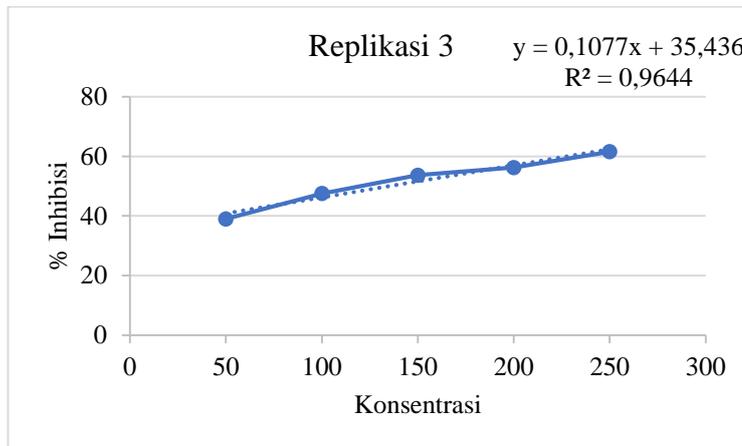
$$= 0,1026x + 35,316$$

IC50 = 50% Peredaman

Jika $y = 50$ maka, $50 = 0,1026x + 35,316$

$$X = 143,1 \mu\text{g/mL (Sedang)}$$

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50	38,974
100	47,521
150	53,675
200	56,239
250	61,538



$$a = 35,436 \quad b = 0,1077 \quad r = 0,9644$$

$$\text{Pers. Garis} \quad y = bx + a$$

$$= 0,1077x + 35,536$$

IC50 = 50% Peredaman

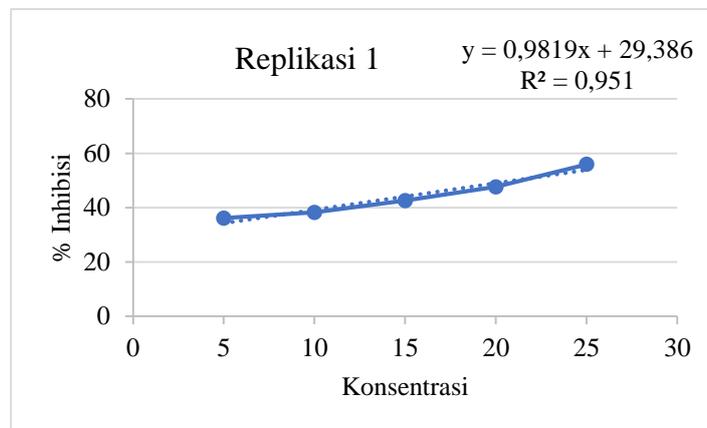
$$\text{Jika } y = 50 \quad \text{maka, } 50 = 0,1077x + 35,536$$

$$X = 135,3 \text{ } \mu\text{g/mL (Sedang)}$$

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC50 ± SD	RSD	Kategori
157,3	143,1	135,2	145,2 ± 11,2 μg/mL	7,7%	Sedang

- **Perhitungan IC50 Kuersetin**

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5	36,101
10	38,267
15	42,599
20	47,653
25	55,957



$$a = 29,386 \quad b = 0,9819 \quad r = 0,951$$

Pers. Garis $y = bx + a$

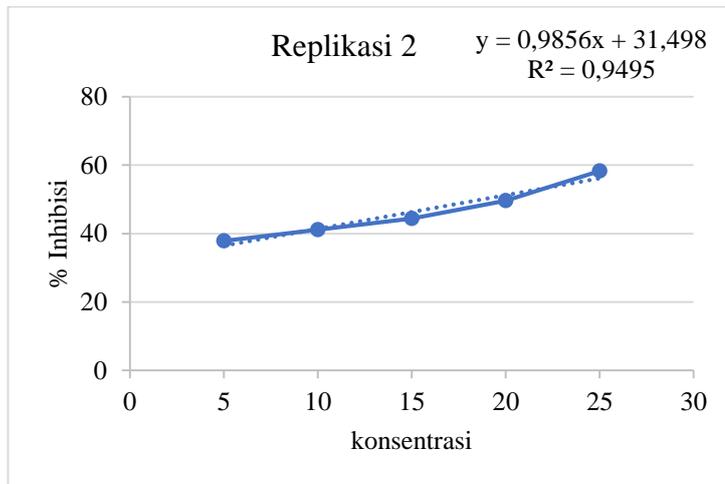
$$= 0,9819x + 29,2386$$

IC50 = 50% Peredaman

Jika $y = 50$ maka, $50 = 0,9819x + 29,386$

$$X = 20,9 \mu\text{g/mL (Sangat kuat)}$$

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5	37,906
10	41,155
15	44,404
20	49,639
25	58,303



$$a = 31,498 \quad b = 0,9856 \quad r = 0,9495$$

$$\text{Pers. Garis} \quad y = bx + a$$

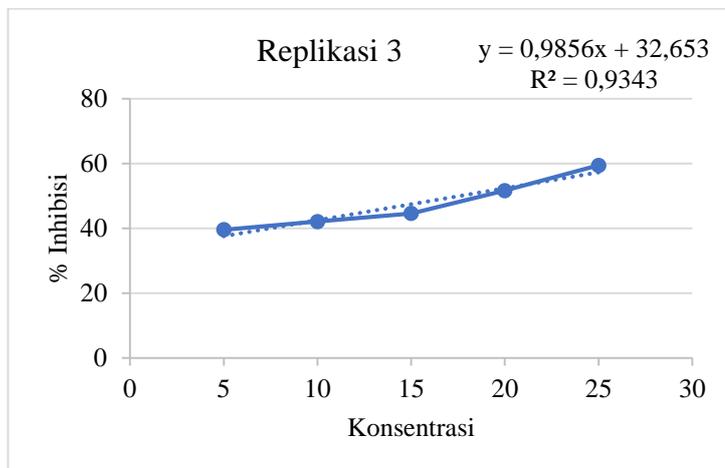
$$= 0,9856x + 31,498$$

IC50 = 50% Peredaman

$$\text{Jika } y = 50 \quad \text{maka, } 50 = 0,9856x + 31,498$$

$$X = 18,8 \mu\text{g/mL (Sangat kuat)}$$

Konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5	39,531
10	42,058
15	44,585
20	51,625
25	59,386



$$a = 32,653 \quad b = 0,9856 \quad r = 0,9343$$

$$\text{Pers. Garis} \quad y = bx + a$$

$$= 0,9856x + 32,653$$

IC50 = 50% Peredaman

$$\text{Jika } y = 50 \quad \text{maka, } 50 = 0,9856x + 31,498$$

$$X = 17,6 \mu\text{g/mL (Sangat kuat)}$$

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC50 ± SD	RSD	Kategori
20,9 $\mu\text{g/mL}$	18,8 $\mu\text{g/mL}$	17,6 $\mu\text{g/mL}$	19,1 ± 1,67 $\mu\text{g/mL}$	8,75%	Sangat kuat

Lampiran 10. Ujian Sidang Skripsi

