

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L) DENGAN METODE
DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl)**

SKRIPSI



**Oleh :
Rafli Aditya
19040105**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L) DENGAN METODE
DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:
Rafli Aditya
19040105

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

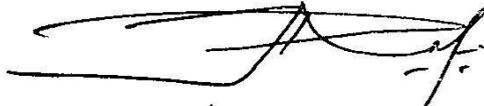
Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan disetujui untuk

Mengikuti Seminar Hasil Program Studi Sarjana Farmasi

Universitas dr. Soebandi

Jember, 23 Januari 2023

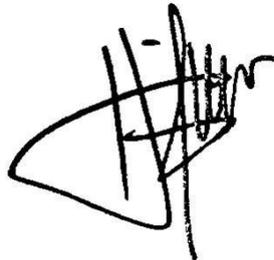
Pembimbing Utama,



Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si

NIDN. 0705019003

Pembimbing Anggota,



Apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm

NIDN. 0716059404

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Dengan Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari :
Tanggal :
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 07030668903

Penguji II



Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si
NIDN. 0705019003

Penguji III



apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm
NIDN. 0716059404

Mengesahkan

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 07030668903

LEMBAR PERNYATAAN ORSINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rafli Aditya
Nim : 19040105
Program Studi : Sarjana Farmasi

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

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 15 Agustus 2023

Yang Menyatakan,



(Rafli Aditya)

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L) DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl)

Oleh :

Rafli Aditya

Nim. 19040105

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT , karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar dan tepat waktu;
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
3. Seluruh dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Sarjana Farmasi Univeritas dr.Soebandi, khususnya kepada dosen pembimbing skripsi saya Bapak Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si dan Ibu apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm yang telah sabar dalam membimbing saya dan telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi saya;
4. Kepada kedua orang tua saya yang telah berjuang untuk saya dalam hal pendidikan, yang selalu mendoakan saya dan memberikan semangat untuk saya. Saya mengucapkan banyak terimakasih karena saya tidak pernah merasakan kekurangan dalam hal apapun, saya berharap semoga skripsi ini menjadi tahap awalan untuk membahagiakan kedua orang tua saya;
5. Kepada Dinda Azzah Aulia yang selalu membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini, memberikan solusi, menemani perjalanan saya dalam menyelesaikan skripsi ini;
6. Kepada diri saya sendiri, saya ucapkan terimakasih karena sudah berjuang menyelesaikan skripsi ini, susah senang selalu saya hadapi hingga akhirnya saya bisa menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu;

7. Kepada teman-teman seperjuangan saya, saya mengucapkan terimakasih
banyak sudah mau berteman dengan saya;
8. Almamater Universitas dr.Soebandi Jember;

MOTTO

“Terus berpikiran positif, tidak peduli seberapa keras kehidupan yang dijalani”

-Ali bin Abi Thalib

“Janganlah bersedih. Sesungguhnya pertolongan akan datang bersama adanya kesabaran”

-Jalaludin Rumi

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan). Kerjakan dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

-Surat Al-Insyirah 6-8

ABSTRAK

Aditya, Rafli* Usman, Mohammad Rofik** Firdaus, Amalia Wardatul***.2023.
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle l*) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazyl) Skripsi.
Program Studi Sarjana Farmasi. Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : Penyakit degeneratif merupakan salah satu penyebab kematian terbesar didunia. Hasil Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa tingkat penyakit degeneratif di Indonesia mencapai 65,7%. Berbagai penyakit dan masalah kesehatan seperti penyakit rheumatoid, arthritis, alzheimer, kardiovaskular, kanker dan gangguan neurodegeneratif lainnya yang terjadi di dalam tubuh berhubungan dengan radikal bebas. Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang menjadi salah satu penyebab kematian utama. Tanaman sirih merupakan tanaman lokal yang memiliki banyak manfaat. Salah satunya memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi maserasi dalam mengekstrak daun sirih hijau. Diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazyl) dan kuersetin sebagai pembanding.

Metode : Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* dengan metode DPPH sebagai radikal bebas, kuersetin sebagai pembanding, metode ekstraksi maserasi dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

Hasil Penelitian : Rendemen ekstrak daun sirih hijau dengan metode maserasi 16,44%. Nilai IC₅₀ kuersetin 15,6366±0,11015 µg/ml, ekstrak etanol daun sirih hijau dengan metode maserasi 119,5367±1,38551 µg/ml. Nilai IC₅₀ kuersetin termasuk dalam kategori sangat kuat sedangkan ekstrak etanol daun sirih hijau termasuk dalam kategori sedang.

Kesimpulan : Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) sebesar 119,5367 µg/ml termasuk dalam kategori sedang.

Kata Kunci : Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*), Maserasi, Aktivitas Antioksidan, DPPH

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Aditya, Rafli* Usman, Mohammad Rofik** Firdaus, Amalia Wardatul ***. 2023. **Antioxidant Activity Test of 96% Ethanol Extract of Green Betel Leaves (*Piper betle* L) with the DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl) Method.** Thesis. Pharmacy Undergraduate Study Program. Dr. University Soebandi.

Background : Degenerative disease is one of the biggest causes of death in the world. The results of the 2018 Riskesdas data show that the rate of degenerative diseases in Indonesia has reached 65.7%. Various diseases and health problems such as rheumatoid, arthritis, Alzheimer's, cardiovascular disease, cancer and other neurodegenerative disorders that occur in the body are related to free radicals. Diabetes mellitus (DM) is a degenerative disease which is one of the main causes of death. Betel plant is a local plant that has many benefits. One of them has activity as an antioxidant. In this study, the maceration extraction method was used to extract green betel leaves. Antioxidant activity was tested using the DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl) method and quercetin as a comparison.

Method : This study used a true experimental design with the DPPH method as a free radical, quercetin as a comparison, the maceration extraction method with concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm and 250 ppm.

Result : The yield of green betel leaf extract by maceration method was 16.44%. The IC₅₀ value of quercetin was 15.6366 ± 0.11015 µg/ml, the ethanol extract of green betel leaves by maceration method was 119.5367 ± 1.38551 µg/ml. The IC₅₀ value of quercetin is included in the very strong category while the ethanol extract of green betel leaves is included in the moderate category.

Conclusion : The IC₅₀ value of the ethanol extract of green betel leaf (*Piper betle* L) of 119.5367 µg/ml is included in the medium category.

Keyword : Green Betel Leaf (*Piper betle* L), Maceration, Antioxidant Activity, DPPH

* Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, saya panjatkan puja dan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, serta inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal Penelitian saya dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Dengan Metode DPPH (2,2diphenyl-1-pikrilhidrazil). Adapaun tujuan penulisan Proposal Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana farmasi dua Universitas dr. Soebandi Jember.

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

1. Bapak Andi Eka Pranata, S.St., S.Kep., Ns., M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi.
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm 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.
4. Mohammad Rofik Usman, M.Si selaku Pembimbing Utama.
5. Apt. Amalia Wardatul Firdaus, M.S.Farm selaku Pembimbing Anggota.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan Skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu dengan lapang dada dan tangan terbuka penulis

membuka selebar-lebarnya bagi pembaca yang ingin memberi saran dan kritik kepada penulis sehingga penulis dapat memperbaiki penulisan Skripsi ini.

Penulis mengharapkan semoga dari penulisan Skripsi ini dapat diambil manfaatnya sehingga dapat memberikan inspirasi terhadap pembacanya.

Jember, 14 Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	5
Tujuan Penelitian.....	5
Tujuan Umum.....	5
Tujuan Khusus	5
Manfaat Penelitian.....	5
Manfaat Bagi Peneliti	5
Manfaat Bagi Peneliti Lain.....	6
Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan.....	6
Keaslian Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
Tanaman Sirih	7
Morfologi Tanaman Sirih	7
Klasifikasi Tanaman Sirih.....	8
Kandungan Kimia Daun Sirih	9
Manfaat Daun Sirih.....	11
Penelitian Daun Sirih.....	12
Simplisia.....	14
Ekstrak.....	14
Radikal Bebas.....	15

Definisi Radikal Bebas	15
Sumber Radikal Bebas.....	16
Mekanisme Radikal Bebas	16
Penyakit yang Ditimbulkan Radikal Bebas	17
Antioksidan	18
Definisi Antioksidan.....	18
Mekanisme Antioksidan.....	19
Sumber Antioksidan	19
Uji Aktivitas Antioksidan.....	20
DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazyl</i>)	20
Spektro Pengujian Antioksidan	22
Bagian-Bagian Spektrofotometer UV-Vis.....	23
Tipe Spektrofotometer	25
Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis	26
Tinjauan Metode Ekstraksi.....	27
Definisi Ekstraksi	27
Macam-Macam Ekstraksi.....	27
Pelarut.....	30
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	31
Kerangka Konseptual.....	31
Hipotesis Penelitian	32
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	33
Desain Penelitian.....	33
Populasi dan Sampel	33
Populasi.....	33
Sampel	33
Variabel Penelitian	33
Variabel Bebas.....	33
Variabel Terikat	34
Variabel Kontrol	34
Tempat Penelitian.....	34
Waktu Penelitian	34
Definisi Operasional.....	35

Teknik Pengumpulan Data	36
Alat dan Bahan	36
Persiapan Sampel.....	36
Skrining Fitokimia	38
Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif	39
Teknik Analisis Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN	43
Hasil Determinasi	43
Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	43
Ekstraksi Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)	43
Skrining Fitokimia.....	44
Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	44
Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin	45
Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Daun Sirih Hijau.....	46
Hasil Analisa Nilai IC50 Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	48
Hasil Analisis Data.....	49
BAB 6 PEMBAHASAN	50
Ekstraksi Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)	50
Nilai % Rendemen	51
Skrining Fitokimia.....	52
Aktivitas Antioksidan.....	53
BAB 7 KESIMPULAN	58
Kesimpulan.....	58
Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
DAFTAR LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

1.1	Tabel Keaslian Penelitian	6
2.1	Tabel Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH	22
4.1	Definisi Operasional	35
	Hasil Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau	43
	Hasil Skrining Fitokimia.....	44
	Persamaan Regresi Linier	46
	Hasil Data % Inhibisi Kuerstin	47
	Hasil Data % Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	47
	Hasil Data Nilai IC50 Kuerstin.....	48
	Hasil Data Nilai IC50 Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	48
	Hasil Analisis Data Aktivitas Antioksidan	49

DAFTAR GAMBAR

Tanaman Sirih.....	8
Mekanisme DPPH	21
Diagram Alat Spektrofotometer UV-Vis.....	25
Skema Spektrofotometer UV-VIS	26
Panjang Gelombang Maksimum.....	44
Optimasi Waktu Inkubasi	46

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	: <i>2,2-Azinobis-3-Ethylbenzoathiazoline-6-sulfonic acid</i>
BHA	: <i>Butylated Hydroxy Anisole</i>
BHT	: <i>Butylated Hydroxy Toluene</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazyl</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
IC50	: <i>Inhibitor Concentration</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
RNS	: <i>Reactive Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBHQ	: <i>Tertiary-Butyl Hydroquinone</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penyakit degeneratif merupakan salah satu penyebab kematian terbesar didunia. Hasil Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa tingkat penyakit degeneratif di Indonesia mencapai 65,7%. Berbagai penyakit dan masalah kesehatan seperti penyakit rheumatoid, arthritis, alzheimer, kardiovaskular, kanker dan gangguan neurodegeneratif lainnya yang terjadi di dalam tubuh berhubungan dengan radikal bebas (Das dkk., 2019). Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang menjadi salah satu penyebab kematian utama bersama dengan penyakit jantung, stroke, dan penyakit ginjal. Penyakit diabetes melitus merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan radikal bebas menyerang asam lemak tak jenuh dalam jaringan sel sehingga terjadi reaksi antar sel dan menghasilkan senyawa peroksida yang merusak sel. Pada penderita diabetes melitus, meningkatnya kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin, kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Za dkk., 2022).

Radikal bebas merupakan senyawa yang reaktif karena kehilangan 1 elektron, Radikal bebas dapat dinetralkan dengan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh dengan mekanisme kerja mendonorkan elektronnya terhadap senyawa oksidan (Sarma dkk., 2018). Tubuh manusia tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang

berlebih, sehingga jika terpapar radikal bebas secara berlebihan tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Antioksidan dapat digolongkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami biasanya ditemukan pada biji, buah, batang, daun dan bunga pada tumbuhan tertentu. Antioksidan alami diantaranya yakni senyawa turunan fenol, tokoferol, kumarin dan asam askorbat yang bermanfaat bagi kesehatan. Sedangkan Antioksidan sintesis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia contohnya Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ) (Indra, 2020). Namun, karena kebutuhan manusia terus meningkat sehingga banyak makanan dan obat-obatan yang diproduksi atau disintesis secara besar. Obat sintesis ini terkadang didasarkan pada aktivitas yang meningkat tanpa mempelajari efek samping dalam jangka panjang. Efek samping yang sering terjadi yaitu kecemasan, depresi, obsesi, gangguan tidur, serangan panik dan agresivitas. Sehingga membutuhkan pengobatan dari bahan alam/herbal untuk meminimalisir efek samping, selain itu obat dari bahan alam/herbal lebih efektif untuk terapi penyakit kronis yang tidak bisa disembuhkan dengan obat sintesis (Supardi et.al, 2014).

Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan penyakit secara tradisional adalah tanaman sirih. Tanaman sirih merupakan tanaman lokal yang memiliki banyak manfaat. Salah satunya memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Karena tanaman sirih memiliki kandungan senyawa antara lain flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri. Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif.

Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion proton hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer. Kandungan tanin dalam daun sirih juga bisa berperan sebagai antioksidan biologis. Peranan biologi tanin yang kompleks ialah sebagai pengendap protein sampai pengkelat logam. (Maulidatul Zulfah dkk, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hasnaeni (2019) yang menunjukkan bahwa dari 3 metode yang dilakukan dalam mengekstraksi kayu betabeta memperoleh nilai rendemen yang berbeda-beda. Adapun metode yang dilakukan yaitu maserasi memperoleh hasil rendemen ekstrak dengan nilai 2,352%, refluks hasil nilai rendemen 1,611%, soxhletasi hasil nilai rendemen 0,960%. Metode ekstraksi berpengaruh terhadap hasil rendemen ekstrak, pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi maserasi menghasilkan rendemen paling tinggi yang artinya ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling baik diantara ketiga metode tersebut. Dengan demikian metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi.

Pelarut memiliki peran penting dalam proses penyarian senyawa kimia. Sifat kepolaran dari pelarut sangat mempengaruhi dalam menyari senyawa target dari bahan bakunya. Penggunaan pelarut etanol dapat menjadi optimal jika faktor konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi sesuai. Empat faktor ini tidak bisa disamaratakan dalam setiap proses ekstraksi karena masing-masing bagian tumbuhan memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Hal ini bertujuan agar pelarut etanol bisa menarik senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun sirih

hijau. Alasan lainnya adalah karena etanol merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, aman untuk lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Hakim dan Saputri, 2020). Daun sirih memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk terapi pengobatan, maka hal ini yang mendasari untuk dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun sirih sebagai alternatif pengobatan penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas. Pengaruh konsentrasi ekstrak yang ditambahkan memengaruhi kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas (Turangan dkk., 2019).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Menggunakan metode DPPH daripada metode FRAP dan ABTS karena metode DPPH memiliki kelebihan yaitu memiliki aktivitas penangkal radikal bebas yang tinggi pada pelarut organik pada suhu kamar, sangat mudah dan sederhana saat digunakan, membutuhkan sampel yang sedikit dan waktu singkat, serta hanya membutuhkan spektrofotometri UV-Vis. Sedangkan metode FRAP reagen yang bersifat kurang stabil sehingga harus dibuat baru dan segera digunakan. Metode ABTS sangat sensitif terhadap cahaya selain itu pembentukan ABTS memerlukan waktu inkubasi selama 12-16 jam dalam kondisi gelap (Ikhlas, 2013). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Turangan dkk., 2019).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle L*) menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikirilhydrazyl*).

Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini yaitu, bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper Betle L*) dengan metode DPPH (*2,2 Diphenyl-1-picrylhidrazyl*)?

Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper Betle L*) dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazyl*).

Tujuan Khusus

- 1) Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper Betle L*).
- 2) Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis nilai aktivitas antioksidan (*IC50*) pada ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle L*) dengan menggunakan metode DPPH.

Manfaat Penelitian

Manfaat Bagi Peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle L*) dengan menggunakan metode DPPH.

Manfaat Bagi peneliti Lain

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

Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberi informasi serta pengetahuan untuk kemajuan dibidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antioksidan etanol daun sirih (*Piper Betle L*).

Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi penambahan ilmu pengetahuan khususnya bagi ilmu kefarmasian mengenai aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle L*) sebagai alternatif pengembangan obat baru.

Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
(Maulidatul Zulfah, Wilda Amananti, 2021)	1. Menggunakan sampel daun sirih 2. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan pelarut etanol 95%. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%
(Diana Serlahwaty dkk., 2011)	1. Menggunakan sampel daun sirih 2. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan pelarut etanol 70%. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%
(Turangan dkk., 2019)	1. Menggunakan metode DPPH	Menggunakan sampel ekstra etanol kulit batang mahoni. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sirih (<i>Piper Betle L</i>)

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Sirih

Morfologi Tanaman Sirih

Sirih adalah jenis tumbuhan merambat yang bersandar pada batang pohon lain dan memiliki tinggi 5-15 meter. Batang sirih berwarna coklat kehijauan berbentuk bulat, beruas dan merupakan tempat keluarnya akar. Daunnya yang tunggal berbentuk jantung, berujung runcing, tepi rata, tulang daun melengkung, lebar daun 2,5-10 cm, panjang daun 5-18 cm, tumbuh 8 berselang-seling, bertangkai, dan mengeluarkan bau yang khas bila dihancurkan. Tanaman sirih memiliki bunga majemuk berkelamin 1, berumah 1 atau 2. Bulir berdiri sendiri, di ujung dan berhadapan dengan daun. Panjang bulir sekitar 5-15 cm dan lebar 2-5 cm. Pada bulir jantan panjangnya sekitar 1,5-3 cm dan terdapat dua benang sari yang pendek sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 2,5-6 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Akar sirih merupakan akar tunggang yang berbentuk bulat dan berwarna coklat kekuningan, buah tanaman sirih merupakan buah yang berbentuk bulat dengan ujung yang tumpul, bulir pada buah berbulu, tersusun rapat, dan berwarna kelabu. Biji pada tanaman sirih berbentuk bulat (Putri dkk., 2019).

Klasifikasi Tanaman Sirih

Di Indonesia, sirih merupakan flora khas provinsi Kepulauan Riau. Sirih tersebar di seluruh wilayah Indonesia, sering ditemukan di pekarangan. Tempat tumbuh yang disukai adalah pada ketinggian 200-1000 m dpl yang mempunyai curah hujan 2250 – 4750 mm per tahun. Tanaman ini tumbuh di daerah hutan agak lembab dengan keadaan tanah yang lembab, daerah yang teduh dan terlindung dari angin (Putri dkk., 2019).

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Ordo : Piperales
Familia : Piperaceae
Genus : Piper
Species : Piper betle L.



(Sumber: <https://www.suara.com>) Gambar

2. 1 Tanaman Sirih

Kandungan Kimia Daun Sirih

Tumbuhan sirih ini kaya akan kandungan kimia seperti minyak atsiri, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, allypykatekol, karvakol, eugenol, eugenol methyl ether, p-terpenenna, eskuiterpena, fenil propane, tannin, diastase, gula dan pati. Arecoline yang ditemukan pada seluruh bagian tanaman berguna merangsang saraf pusat, merangsang daya pikir, meningkatkan gerakan peristaltik merangsang kejang, dan meredakan sifat mendengkur. Eugenol yang ditemukan pada daun berguna untuk mencegah ejakulasi premature, mematikan jamur candida albicans, antikejang, analgesic, anestetik, pereda kejang pada otot polos dan penekan pengendali tegak. Tanin yang juga terdapat pada daun berguna sebagai astringent (mengurangi sekresi pada liang vagina) sehingga sirih dapat berfungsi untuk mengobati keputihan (Putri dkk., 2019).

Menurut penelitian Zulfah, M dan Amananti, W., (2021) tanaman sirih merupakan tanaman lokal yang memiliki banyak manfaat, salah satunya memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Khasiat sirih tersebut ada karena sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain flavonoid, alkaloid, pulevenolad, tanin, dan minyak atsiri.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat merah, ungu, biru dan kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Flavonoid memiliki gugus hidroksil dengan golongan senyawa polar, mempunyai struktur C6-C3-

C6, setiap bagian C6 memiliki cincin benzena yang dihubungkan dengan C3 yang merupakan rantai alifatik. Flavonoid memiliki sifat pereduksi yang baik dengan menghambat reaksi oksidasi secara enzimatik atau non-enzimatik. Flavonoid dapat meredam terjadinya radikal hidroksi dan superoksi sehingga dapat melindungi membran lipid terhadap reaksi-reaksi yang memberikan dampak buruk. Aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid mempunyai peran sebagai komponen aktif tumbuhan yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit (Aini, 2022).

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang dihasilkan dari sintesis organisme hidup dengan mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid secara umum memiliki bentuk kristal dengan titik lebur tertentu. Alkaloid mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air, kecuali alkaloid garam HCL atau H₂SO₄ dapat larut air (Aini, 2022).

c. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang mempunyai rasa pahit dan kelat Hanani, (2019). Tanin mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung gugus hidroksil fenolik dengan membentuk ikatan silang efektif dengan protein dan molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat. Tanin terdiri dari 2 golongan yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin

yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* dan *ellagic acid* berikatan ester dengan molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon berupa *catechin* dan *gallocatechin* (Aini, 2022).

d. Minyak atsiri

Minyak atsiri daun sirih hijau mengandung senyawa fenol yang diduga berperan besar dalam aktivitas antioksidan edible film karena senyawa fenol mempunyai mekanisme penangkapan radikal bebas melalui reaksinya dengan gugus $-OH$. Penelitian sebelumnya mengindikasikan bahwa fenol mempunyai kontribusi yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan edible film. Semakin tinggi total fenol dari akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi pula. (Suparyanto dan Rosad, 2020)

Manfaat Daun Sirih

Daun Sirih merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang ada di Indonesia, tanaman ini banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari sebagai tanaman obat yang memiliki banyak khasiat. Khususnya oleh masyarakat Bali, daun sirih banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional dalam bentuk ramuan, yang baik digunakan untuk mencegah bau badan, obat sesak napas, mengobati masalah tenggorokan dan paru-paru. Selain itu juga ditunjukkan bahwa fraksinasi dan senyawa murni yang didapat dari ekstrak

daun sirih, memiliki aktivitas antidiabetik, kardiovaskular, antiinflamasi, antioksidan, dan anti agregasi trombosit (Naufalza, 2021).

Manfaat dari daun sirih adalah digunakan secara turun temurun untuk pengobatan tradisional seperti pengobatan batuk, sakit gigi, penyegar dan sebagainya. Bagian-bagian dari tanaman sirih seperti akar, biji dan daun berpotensi untuk pengobatan tetapi yang paling sering dimanfaatkan untuk pengobatan adalah bagian daunnya. Dalam memanfaatkan daun sirih, digunakan daun yang asih berwarna hijau dan dipetik sebelum matahari terbit karena intensitas matahari mengurangi aroma dari daun. Daun sirih mengandung senyawa antiseptik yang dapat membunuh kuman dan zat adstringen yang mampu mengerutkan jaringan.

Daun sirih juga berfungsi untuk membantu mengurangi asam urat, dimana arecoline yang ditemukan pada seluruh bagian tanaman berguna merangsang saraf pusat (Putri dkk., 2019).

Penelitian Daun Sirih

Menurut Maulidatul Zulfah, Wilda Amananti, (2021) penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun Sirih Hijau dan daun Sirih Merah yang terdapat di daerah Kecamatan Tegal Timur Kota Tegal. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan etanol 96% selama 3 hari. Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan reaksi warna. Penetapan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) sebagai radikal bebas. Analisis data dilakukan menggunakan metode Deskriptif dengan cara

membandingkan hasil ekstraksi dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pemecahan dan konsentrasi yang sama pada sampel menghasilkan nilai IC50 yang berbeda. Pada ekstrak daun sirih hijau dengan nilai IC50 sebesar 2,0375 ppm memiliki aktivitas antioksidan yang sangat aktif, sedangkan ekstrak daun sirih merah dengan nilai IC50 sebesar 50,1187 ppm memiliki aktivitas antioksidan yang aktif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari ekstrak daun sirih merah.

Menurut Widayani dan Cahyono, (2018) Hasil uji aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah termasuk antioksidan sedang dengan nilai IC50 136,947 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan minyak atsiri daun sirih merah dalam minyak goreng curah ditunjukkan dengan data persen inhibisi dan kualitas minyak goreng curah ditunjukkan dengan data angka asm lemak bebas.

Menurut Diana Serlahwaty dkk., (2011) telah dilakukan skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak (air dan etanol 70%) daun sirih hijau dan merah. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol 70% daun sirih hijau dan merah mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid yang keberadaannya dapat menghasilkan aktivitas antioksidan. Metode penghambatan radikal bebas DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak air sirih hijau dan sirih merah (IC50) sebesar 36,02 $\mu\text{g/mL}$ dan 60,35 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (IC50) sebesar

10,59 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 28,05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, masing-masing. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak etanol daun sirih hijau 70% ($\text{IC}_{50} = 10,59 \mu\text{g}/\text{mL}$), namun lebih rendah dibandingkan vitamin C ($\text{IC}_{50} = 7,39 \mu\text{g}/\text{mL}$) atau quercetin ($\text{IC}_{50} = 2,89 \mu\text{g}/\text{mL}$) sebagai kontrol positif.

Simplisia

Simplisia adalah bahan alami sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain seperti simplisia yang dikeringkan. Simplisia 14 terbagi dalam beberapa kelompok yaitu simplisia hewani, nabati, dan mineral. Simplisia hewani merupakan simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tumbuhan utuh, bagian atau eksudat tanaman. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berupa mineral belum diolah dan telah diolah secara sederhana, belum berupa zat kimia murni (Pambudi dkk., 2017).

Ekstrak

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

Radikal Bebas

Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbital luarnya. Elektron yang tidak memiliki pasangan akan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk senyawa radikal bebas baru yang lebih reaktif. Radikal bebas terdiri dari 2 golongan yaitu *Reactive Oxygen Species (ROS) Nitrogen* dan *Reactive Species (RNS)*. ROS merupakan mediator yang berperan pada kerusakan intraseluler lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. ROS bersifat sangat reaktif karena tidak stabil (memiliki elektron yang tidak berpasangan). Stres oksidatif terjadi ketika ada ketidakseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan sehingga meningkatkan kelebihan produksi ROS, akibatnya terjadi kerusakan jaringan. Produksi stress oksidatif terjadi pada proses metabolisme enzimatik dan reaksi nanoenzim. Reaksi enzimatik menghasilkan ROS pada proses pernafasan, sintesis prostaglandin, fagositosis dan sistem sitokrom 450 (Pizzino dkk., 2017). Stress oksidatif dapat memicu terjadinya penyakit fisiologis seperti penuaan, inflamasi, asma, diabetes, kanker dan aterosklerosis. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap kerusakan yang disebabkan radikal bebas dan stress oksidatif yang disebut antioksidan. Senyawa antioksidan mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi yang menghasilkan radikal bebas, memecah rantai yang dapat merusak jaringan sel (Ikrima dkk., 2020).

Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas terdiri dari 2 golongan yaitu sumber radikal bebas dari dalam tubuh (endogenus) dan sumber radikal bebas dari luar tubuh (eksogenus). Radikal bebas endogenus terbentuk akibat proses autoksidasi, oksidasi enzim, fagositosis pada proses respirasi, transfer elektron dalam mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi (Aini, 2022).

Proses autoksidasi merupakan senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik, atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Dalam proses oksidasi enzim menghasilkan senyawa oksidan asam hipoklorit sekitar 70-90 % konsumsi O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan OH serta HOCl membentuk H_2O_2 dengan bantuan bakteri. Proses fagositosis dalam respirasi yaitu proses fagositosis mikroorganisme oleh sel leukosit menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar. Radikal bebas eksogenus merupakan radikal bebas yang disebabkan dari luar tubuh seperti pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan tambahan dan asap rokok (Kesuma, 2015).

Mekanisme Radikal Bebas

Radikal bebas terbentuk ketika radikal bebas mendonorkan satu elektronnya, mengambil satu elektron dari molekul lain atau bergabung dengan molekul nonradikal lainnya. Radikal mempunyai sifat reaktif yang sangat tinggi untuk menarik elektron. Hal ini yang mengakibatkan terjadinya reaksi-reaksi yang menghasilkan radikal baru. Mekanisme reaksi yang terjadi

pada proses radikal bebas meliputi reaksi inisiasi, reaksi propagasi dan reaksi terminasi (Aini, 2022).

Reaksi inisiasi terjadi pada awal terbentuknya radikal bebas, pada tahap ini radikal bebas dibentuk dan menyerang lipid. Pada tahap ini radikal bebas mulai terbentuk dari beberapa proses. Suhu tinggi, proses ekstruksi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer akan menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Dekomposisi hidroperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal. Penyerapan sinar UV menghasilkan radikal yang disebabkan oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil. Secara umum degradasi polimer disebabkan oleh penyerapan sinar UV dari autoksidasi radikal. Substrat oksidatif dapat bereaksi dengan oksigen khususnya pada temperatur tinggi sehingga menghasilkan radikal (Kesuma, 2015). Reaksi propagasi mengakibatkan terjadinya pemanjangan rantai radikal. Reaksi ini melanjutkan rangkaian proses oksidasi kedua sehingga reaksi menyebar dan satu molekul radikal dari proses inisiasi dapat menyebabkan oksidasi banyak molekul. Reaksi terminasi merupakan terjadinya reaksi senyawa radikal dengan radikal lain sehingga menurunkan potensi reaksi propagasi (Aini, 2022).

Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas

Radikal bebas dalam tubuh dapat diperoleh dari sistem endogen (hasil produk metabolisme sel secara normal) dan dapat diperoleh dari sumber eksogen (polusi udara, asap kendaraan, asap rokok dan lain-lain). Pada

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

Antioksidan

Definisi Antioksidan

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

Mekanisme Antioksidan

Antioksidan tubuh mempunyai mekanisme kerja tertentu dalam aktivitasnya. Kadar *malondialdehyde* (MDA) yang tinggi dalam plasma dapat mengakibatkan terjadinya aktivitas oksidasi. Kadar antioksidan yang cukup dalam tubuh dapat menekan aktivitas oksidasi. Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan mendonorkan elektron pada radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan dalam menghambat oksidasi atau reaksi rantai radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan empat macam mekanisme reaksi yaitu reaksi pelepasan hidrogen dari antioksidan, reaksi pelepasan elektron dari antioksidan, reaksi adisi lemak terhadap cincin aromatik pada antioksidan dan reaksi pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Kesuma, 2015).

Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh untuk mekanisme pertahanan maupun asupan yang diperoleh dari luar tubuh seperti tumbuhan atau hewan. Antioksidan yang berasal dari tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder seperti golongan flavonoid, tokoferol dan kumarin. Golongan flavonoid sebagai antioksidan dapat digunakan untuk mereduksi radikal bebas sehingga senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antiradikal bebas. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang dihasilkan dari sintesis kimia. Antioksidan sintetik yang diizinkan dan umum

digunakan pada campuran makanan adalah *Buthylated Hydroxy Anisole* (BHA), *Butylated Hydroxy Toluene* (BHT), dan profil galat (Ismawati, 2016). BHA memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih. Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk kristal padat putih, akan memberi efek sinergis apabila dimanfaatkan bersama BHA (Kesuma, 2015).

Uji Aktivitas Antioksidan

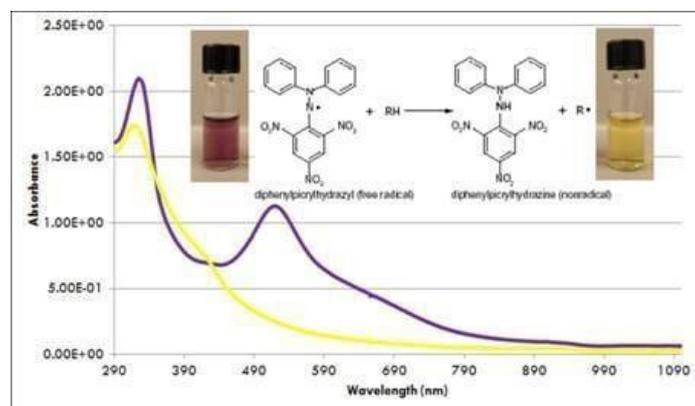
Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara in-vitro maupun in-vivo. Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan sebagai berikut:

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

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara in vitro dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Turangan dkk., 2019).

Prinsip kerja metode DPPH adalah kemampuan antioksidan pada sampel uji untuk mendonorkan hidrogen pada radikal DPPH, adanya atom

hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas menjadi senyawa non-radikal. Adanya senyawa antioksidan akan menyebabkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dari warna ungu gelap menjadi warna kuning. Semakin kuat senyawa antioksidan untuk menangkal radikal DPPH, maka warna yang diperoleh akan semakin pudar (Krisnawan dkk., 2017).



(Morales-Gonzalez, 2013)

Gambar 2. 2 Mekanisme DPPH

Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa uji dengan suatu radikal bebas. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan sehingga menyebabkan penghilangan warna sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Kesuma, 2015). Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC50. Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Achyadi dkk., 2018).

Tabel 2. 1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC50
Sangat kuat	<50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	101-150 µg/mL
Lemah	>150 µg/mL

(Achyadi dkk, 2018)

Spektro Pengujian Antioksidan

1) Definisi

Spektrofometer terdiri dari spektro dan fotometer. Spektrofotometer merupakan alat yang menghasilkan sinar dari spektrum dan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer merupakan alat yang biasa digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang diabsorpsi. Spektrofotometer ialah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer UV-Vis adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultra violet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Berdasarkan hasil pengukuran larutan DPPH menggunakan alat spektrofotometer Uv-Vis diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 516,2 nm. Pengujian tersebut dilakukan pada panjang gelombang maksimum yaitu 516,2 nm dengan alasan pada panjang gelombang maksimum kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar (Cahyaningsih dkk., 2019).

2) Prinsip Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis mempunyai prinsip kerja yaitu cahaya yang berasal dari lampu deuterium atau wolfram yang bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Selanjutnya monokromator akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan melewati sampel yang memiliki kandungan suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Selanjutnya terdapat cahaya yang diserap dan ada juga yang dilewatkan cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Kemudian detektor akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diabsorpsi oleh sampel. Cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Suhartati, 2017).

Bagian-Bagian Spektrofotometer UV-Vis

1) Sumber Radiasi

Sumber radiasi berfungsi sebagai pemberi energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran, sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-Vis adalah lampu deuterium dan lampu filamen. Lampu deuterium digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah UV, sedangkan lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai

inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 25 nm (Warono dkk, 2013).

2) Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penghasil radiasi monokromatis yang diperoleh dari dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar. Monokromator yang terdapat spektrofotometer UV-Vis digunakan lensa prisma dan filter optik (Suhartini, 2017).

3) Kuvet atau Sel

Kuvet atau sel merupakan tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, pada umumnya terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-Vis. Kuarsa transparan bekerja pada rentang 200-700 nm sehingga dapat digunakan pada daerah UV dan daerah visible (Warono dkk, 2013).

4) Fotosel

Fotosel berfungsi sebagai penangkap cahaya yang diteruskan oleh zat kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian disampaikan ke detektor. Detektor adalah material yang dapat menyerap energi foton dan mengubahnya dalam bentuk energi listrik (Warono dkk, 2013).

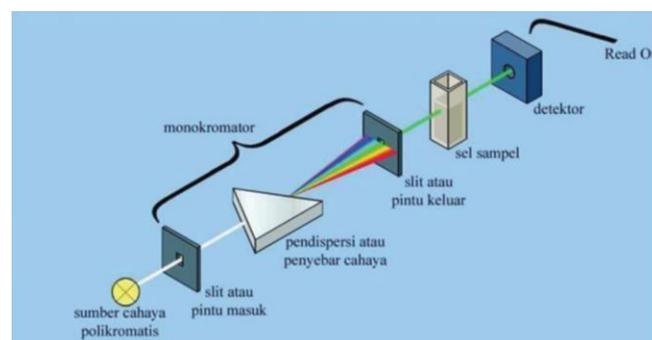
5) Display

Display atau yang biasa disebut tampilan memiliki fungsi untuk mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa angka yang sesuai dengan hasil analisis. Berdasarkan hukum Lambert-Beer yaitu seberkas sinar pada suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sebagian dari sinar tersebut ada yang diteruskan dan sebagian yang diabsorpsi oleh larutan (Warono dkk, 2013).

Tipe Spektrofotometer

1) Single-Beam

Single-beam instrument digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single beam instrument memiliki keuntungan yang sederhana, harganya murah dan mengurangi biaya. Beberapa instrument menghasilkan single beam instrument yang digunakan untuk mengukur sinar UV dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah 190-210 nm dan paling tinggi 800-1000 nm (Suhartati, 2017)

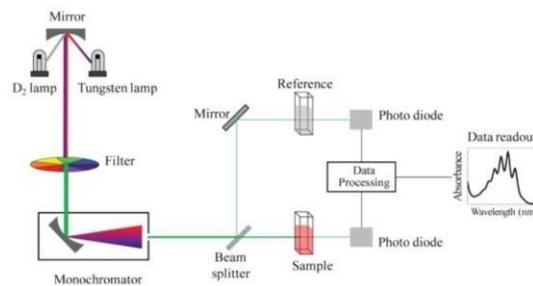


(Suhartati, 2017)

Gambar 2. 3 Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (Single-Beam)

2) Double-Beam

Double beam instrument memiliki dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang biasa disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua melewati sampel. Double beam dibuat pada panjang 190-750 nm (Suhartati, 2017).



(Suhartati, 2017)

Gambar 2. 4 Skema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam)

Syarat Pengukuran Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk penentuann pada sampel yang berupa larutan, gas dan uap. Umumnya sampel harus dirubah menjadi suatu larutan yang jernih. Persyaratan pelarut yang digunakan pada sampel:

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekul dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsrobsi yang dipakai oleh sampel)
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- 4) Kemurniannya harus tinggi

Tinjauan Metode Ekstraksi

Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan yang didasarkan pada perpindahan massa komponen kimia yang terdapat dalam sampel ke dalam pelarut.

Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut ke dalam pelarutnya. Secara umum metode ekstraksi dibedakan berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan. Pemanasan ini sangat berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi dan juga bergantung pada senyawa target yang diharapkan (Prastiwi, 2019).

Macam-macam Ekstraksi

1) Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana, dengan cara melakukan perendaman sampel menggunakan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar. Prinsip kerja pada metode ini yaitu, pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel sampel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Aini, 2022). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Metode ini dipilih

karena dari hasil penelitian Dewi dkk., (2021) yang telah melakukan penelitian perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluksasi terhadap uji aktivitas antioksidan daun mengkudu dengan hasil yang diperoleh yaitu proses ekstraksi secara dingin (maserasi) menghasilkan senyawa metabolit sekunder lebih banyak dan senyawa antioksidan yang didapatkan lebih baik dibandingkan dengan proses ekstraksi secara panas (reflukstasi).

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia dengan cara mengalir atau melewati pelarut yang sesuai secara lambat terhadap sampel dalam suatu alat yang disebut perkolator. Metode ini bertujuan supaya zat berkhasiat tertarik seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan. Prinsip kerja metode ini yaitu, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui sampel tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri. Kekuatan yang berperan pada metode perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi) (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

3) Sokletasi

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan

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

4) Reflukstasi

Salah satu metode ekstraksi senyawa anorganik adalah refluks, metode ini digunakan apabila dalam proses ekstraksi menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai. Prinsip kerja dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N₂ diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

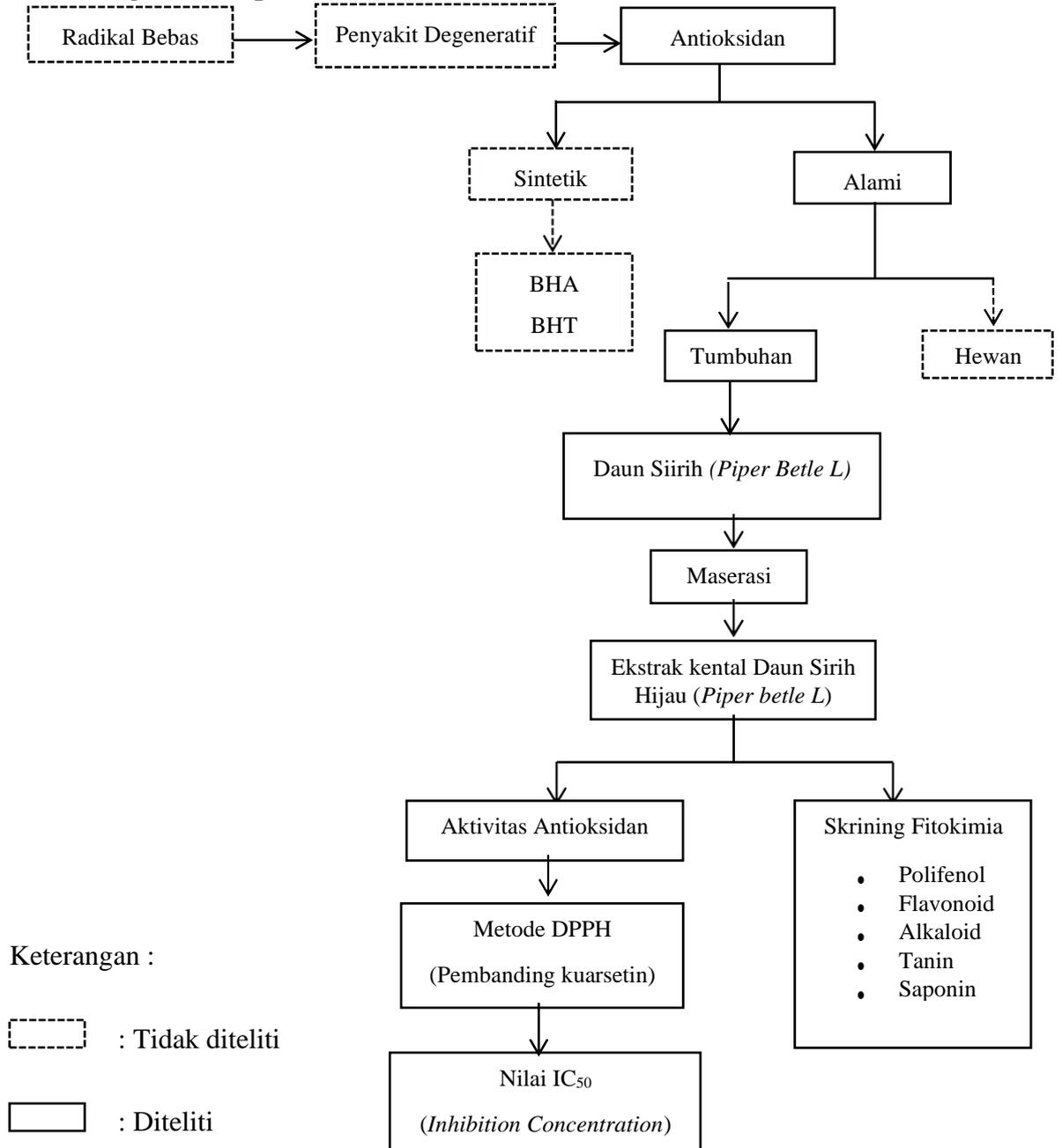
Pelarut

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi untuk pengambilan suatu zat merupakan faktor yang paling penting. Pemilihan jenis pelarut yang tidak sesuai dapat mempengaruhi hasil ekstrak yang diperoleh, menurut prinsip *like dissolves like* pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Senyawa yang bersifat polar akan larut dengan pelarut polar dan senyawa bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Dalam pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu selektivitas, mudah diperoleh, stabil, mudah untuk diuapkan dan murah (Nyoman Citra Suryani, Dewa Gede Mayun Permana², 2016).

Pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi yaitu pelarut etanol, methanol, kloroform dan air. Pemilihan jenis pelarut harus disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam sampel. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dalam proses ekstraksi. Pengaruh konsentrasi ekstrak yang ditambahkan memengaruhi kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas. Sehingga, penghambatan persendian terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi (Turangan dkk., 2019).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Kerangka Konseptual

Hipotesis

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

H₀ : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle L*) menggunakan metode DPPH.

H₁ : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle L*) menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle L*) merupakan eksperimen laboratorium dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil).

Populasi dan Sampel

Populasi

Populasi dalam penelitian ini menggunakan daun sirih hijau (*Piper betle L*) yang diambil di daerah Jatiroto Kabupaten Lumajang.

Sampel

Sampel pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle L*) yang dibuat dalam berbagai macam konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

Variabel Penelitian

Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi dan menjadi penyebab pada variabel terikat (dependen). Variabel bebas disebut juga variabel (independen) (Siyoto dkk, 2015). Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

Variabel Terikat

Variabel terikat atau yang biasa disebut variabel dependen merupakan variabel yang dilakukan pengamatan atau diukur (Surahman dkk, 2016).

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*).

Variabel Kontrol

Variabel kontrol ialah variabel yang dimungkinkan untuk dapat menguji variabel bebas dan variabel terikat. Variabel kontrol memiliki fungsi yaitu sebagai pengontrol untuk memastikan apakah variabel bebas memiliki pengaruh terhadap variabel terikat atau ada pengaruh yang lain (Surahman dkk, 2016).

Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu cara pengujian aktivitas antioksidan, pelarut dan cara ekstraksi serbuk simplisia.

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.

Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023.

Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Skrining Fitokimia	Identifikasi secara kualitatif dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel ekstrak	Ekstrak Etanol daun sirih hijau organoleptis (<i>Piper betle</i> L)	Diamati secara	Nominal	Polif (teradapat perubahan warna biru tua atau hitam pekat) Tannin (terdapat perubahan warna biru kehitaman) Saponin (terbentuk buih) Flavonoid (terjadi perubahan warna menjadi merah) Alkaloid (terbentuknya endapan kuning jingga)
Aktivitas antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada sampel daun sirih hijau yang selanjutnya dihitung persen peredaman dan ditentukan konsentrasi penghambatan IC_{50}	Dipipet masing-masing larutan uji ekstrak selanjutnya ditambahkan larutan DPPH, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum	Spektrofotometri UV-Vis	Ordinal	Jika hasil yang didapati $50\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat) 50-100 $\mu\text{g/mL}</math> (kuat) 101-150\mu\text{g/mL}</math> (sedang) >150\mu\text{g/mL}</math> (lemah)$

Teknik Pengumpulan Data

Alat dan Bahan

1) Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca analitik, batang pengaduk, kertas saring, kain flanel, beaker glass, toples maserasi, aluminium foil, corong buchner, labu ukur, mikropipet, instrument spektrofotometri UV-Vis, kuvet disposable, stopwatch, rotary evaporator serta beberapa vial.

2) Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan yaitu daun sirih hijau (*piper betle* L) yang diperoleh dari Jatiroto Kabupaten Lumajang, etanol 96%, etanol p.a, aquadest, senyawa DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) dan kuarsetin.

Persiapan Sampel

1) Pengumpulan Sampel

Daun sirih hijau yang diperoleh dari Jatiroto Kabupaten Lumajang. Kriteria daun sirih yang diambil yaitu daun sirih yang segar.

2) Determinasi Tanaman

Determinasi adalah langkah awal sebelum melaksanakan penelitian menggunakan tanaman. Hal ini bertujuan untuk mengetahui bahwa tanaman yang digunakan sesuai. Determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.

3) Pembuatan Simplisia

Daun sirih hijau dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan pengotor yang masih melekat pada daun sirih hijau. Setelah dilakukan sortasi basah sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa air pencucian. Kemudian dilakukan perajangan pada daun sirih hijau dan dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu $\pm 55^{\circ}\text{C}$ hingga menjadi simplisia kering (Rivai dkk, 2017).

4) Pembuatan Serbuk Simplisia

Simplisia daun sirih hijau dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga didapat serbuk daun sirih hijau (Rivai dkk, 2017).

5) Ekstraksi Daun Sirih Hijau dengan Metode Ekstraksi Maserasi

Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dibuat dengan menimbang 300 gram serbuk kering daun sirih hijau dan dimasukkan kedalam maserator kemudian ditambahkan dengan 900 mL etanol 96%. Maserasi ini dilakukan selama 3x24 jam dengan keadaan terlindungi dari cahaya matahari langsung lalu diaduk sebanyak 1 kali dalam 24 jam selama 5 menit. Ekstrak disaring menggunakan kain flanel kemudian diuapkan dengan rotary evaporator. Dilakukan remaserasi selama 3x24 jam dengan menambahkan 900 mL pelarut etanol 96% dilakukan pengadukan sebanyak 1 kali dalam 24 jam selama 5 menit. Ekstrak disaring menggunakan kain flanel dan dilakukan penguapan dengan menggunakan rotary evaporator. (Mustamin dkk, 2016).

perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

1) Polifenol

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Jika terdapat perubahan warna biru tua atau hitam pekat, maka menunjukkan adanya kandungan polifenol (Kurang dkk, 2018).

2) Tanin

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Jika terdapat perubahan warna menjadi hijau atau biru kehitaman, maka menunjukkan adanya kandungan tanin (Luditasari dkk, 2019).

3) Saponin

Sebanyak 1 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 5 mL air tambahkan 1 tetes larutan HCl, lalu kocok selama 20 detik dan diamati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk buih tidak hilang menunjukkan adanya kandungan saponin (Lestari dkk, 2021).

4) Flavonoid

Sebanyak 3 mg ekstrak ditetesi HCl pekat sebanyak 3 tetes dan ditambahkan 0,5 mg magnesium. Terjadinya perubahan warna menjadi merah hingga jingga, menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid (Sulistiyarini dkk, 2020).

5) Alkaloid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 2 mL HCl dan disaring. Hasil dari filtrat ditambahkan sebanyak 2 tetes HgCl₂. Ekstrak positif memiliki kandungan senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning jingga atau putih (Kurang dkk, 2018).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif

1) Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL dan dikocok hingga homogen (1000 ppm). Dari larutan tersebut dipipet 4 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas, didapatkan larutan pereaksi dengan konsentrasi 40 ppm (Zulfah, 2021).

2) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam vial kemudian ditambahkan etanol p.a sebanyak 2 mL dikocok hingga homogen. Masukkan kedalam kuvet menggunakan blanko etanol dan diukur pada panjang gelombang 400-600 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Zulfah, 2021).

3) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg ekstrak daun sirih hijau dan dilarutkan dengan pelarut etanol p.a dicukupkan hingga mencapai 10 mL sambil diaduk hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Langkah berikutnya

dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dilakukan dengan cara memipet larutan pada volume tertentu kemudian ditambahkan etanol p.a pada setiap seri konsentrasi (Zulfah, 2021).

4) Pembuatan Larutan Pembanding Kuarsetin

Dibuat larutan pembanding kuarsetin dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 1 mg kuarsetin dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 5 mL dihomogenkan dan dicukupkan sampai tanda batas. Larutan pembanding dibuat dengan berbagai seri konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm (Zulfah, 2021).

5) Optimasi Waktu Inkubasi Kuarsetin

Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan memipet 1 mL kuarsetin dengan seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 0,5 mL. Setelah itu diinkubasi di ruang gelap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dimulai dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit pada panjang gelombang maksimum (Nitasari, 2019).

6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau dan Larutan Kuarsetin

Untuk mengukur aktivitas antoksidan dapat dilakukan dengan memipet 1 mL larutan uji dari masing-masing konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dan larutan kuarsetin

5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan DPPH dihomogenkan. Langkah selanjutnya diinkubasi sesuai hasil optimasi dalam keadaan gelap pada suhu ruang. Diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Nitasari, 2019).

7) Perhitungan Nilai IC₅₀

Inhibitor Concentration atau IC₅₀ merupakan suatu gambaran konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Hasil IC₅₀ dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan nilai presentasi inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel yang digunakan sebagai sumbu x. Semakin kecil nilai IC₅₀ aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Agustina, 2020).

Perhitungan IC₅₀ menggunakan persamaan :

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

Dari persamaan regresi linier $y = bx + a$ dihitung dengan rumus :

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data pada penelitian ini menggunakan *Independent T-Test*. Dilakukan uji normalitas pada data nilai IC₅₀ daun sirih hijau dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Pada uji normalitas data dapat dikatakan terdistribusi normal apabila Sig > 0,05 sedangkan data dikatakan tidak terdistribusi normal apabila Sig < 0,05. Untuk uji homogenitas menggunakan *Lavengé Statistic*. Data dikatakan homogen

jika $\text{Sig} > 0,05$ sedangkan data dikatakan tidak homogen jika $\text{Sig} < 0,05$. (Tejowati, 2021).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

Hasil Determinasi

Determinasi tanaman daun sirih hijau dilakukan di UPA (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman daun sirih hijau yang digunakan dalam penelitian termasuk dalam spesies *Piper betle L* yang tergolong dalam famili *Piperaceae*. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun sirih hijau diperoleh dari Jatiroto Kabupaten Lumajang. Daun sirih hijau yang diperoleh kemudian dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang masih menempel, sampel diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa air pencucian, dilakukan perajangan pada daun sirih hijau kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ sampai menjadi simplisia kering. Setelah dilakukan pengeringan sampel daun sirih hijau dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan serbuk halus sebanyak 300 gram.

Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*)

Tabel 5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau

Berat serbuk simplisia	Berat ekstrak kental	Nilai % rendemen
300 gram	49,32 gram	16,44%

Ekstraksi daun sirih hijau (*Piper betle L*) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 900 ml. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi selama 3 hari, selama proses ekstraksi sesekali dilakukan pengadukan sebanyak 1 kali dalam 24 jam selama 5 menit agar senyawa

yang terdapat pada ekstrak dapat tertarik dengan maksimal. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan kertas saring sehingga filtrat dan residu memisah, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sehingga didapatkan ekstrak kental 49,32 gram dari 300 gram serbuk daun sirih hijau dan diperoleh rendemen sebanyak 16,44%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak tanaman (Putri dkk, 2020). Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 5.2

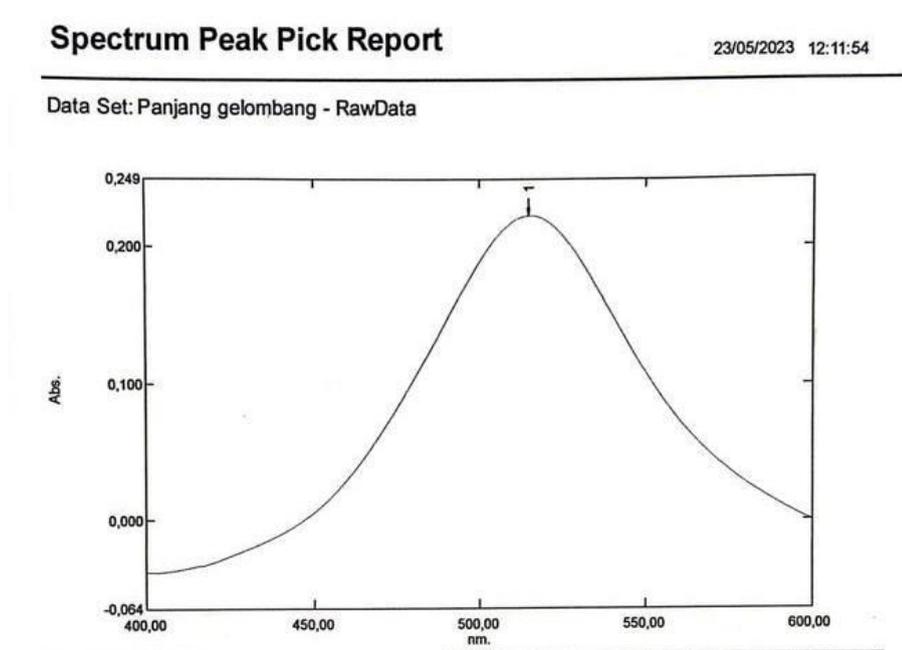
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Perubahan (+)(-)	Hasil	Keterangan
Polifenol	(+) Terdapat perubahan warna biru tua atau hitam pekat (-) Tidak mengalami perubahan	Negatif (-)	Tidak mengalami Perubahan
Tannin	(+) Terdapat perubahan warna menjadi hijau atau biru kehitaman (-) Tidak mengalami perubahan warna	Positif (+)	Terdapat perubahan warna menjadi biru kehitaman
Saponin	(+) Terbentuknya buih (-) Tidak terbentuk atau tidak terdapat buih	Positif (+)	Terbentuknya buih
Flavonoid	(+) Terjadinya perubahan dari merah hingga jingga (-) Tidak terdapat perubahan warna	Positif (+)	Terjadinya perubahan menjadi merah
Alkaolid	(+) Terbentuknya endapan kuning jingga atau putih (-) Tidak terbentuk endapan	Positif (+)	Terbentuknya endapan kuning jingga

Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Optimasi panjang gelombang DPPH dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Optimasi panjang gelombang dilakukan dengan mengambil sebanyak 2 ml larutan DPPH 40 ppm dan dibaca pada daerah panjang

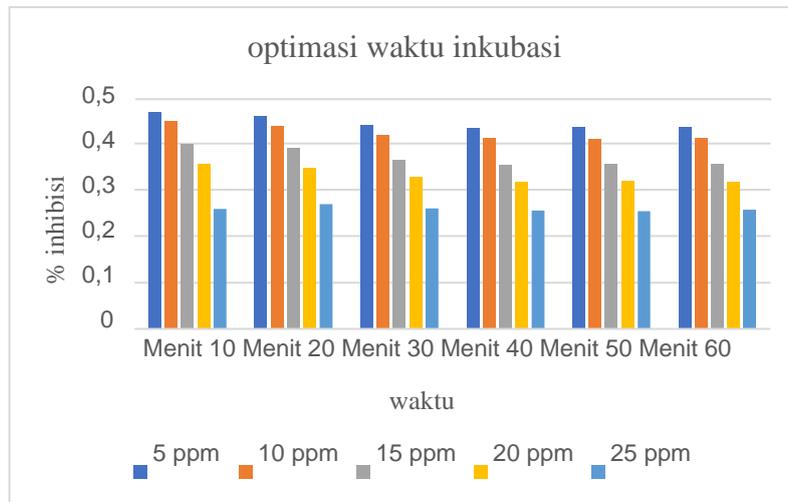
gelombang 400-600 nm. Didapatkan hasil serapan maksimum 0,223 pada panjang gelombang 515 nm.



Gambar 5.2 Panjang Gelombang Maksimum

Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin

Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan menggunakan sampel kuersetin dengan berbagai konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Optimasi waktu inkubasi dilakukan selama 60 menit, dimulai dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil optimasi waktu inkubasi kuersetin optimum pada menit ke-40, hal ini dilihat berdasarkan dari nilai r^2 yang mendekati 1 dan nilai IC50 yang paling kuat.



Gambar 5.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Dari hasil absorbansi yang diperoleh dari pembacaan spektrofotometri UV-Vis data kemudian diolah menjadi % inhibisi dan diperoleh persamaan regresi linier $y=bx+a$, nilai r^2 dan nilai IC_{50} pada menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil optimasi inkubasi optimum pada menit ke-40 dengan hasil persamaan regresi $y= 1,3494x + 26,889$ dan nilai r^2 0,9906. Data hasil persamaan regresi bisa dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Persamaan Regresi Linier Menit ke-10 Sampai ke-60

Menit	Persamaan Regresi	Nilai r^2	Nilai IC_{50}
10	$y=1,5256x+19,528$	0,9687	19,97
20	$y=1,409x+21,995$	0,9798	19,87
30	$y=1,3464x+25,71$	0,9861	18,04
40	$y=1,3494x+26,889$	0,9906	17,12
50	$y=1,346x+26,878$	0,9902	17,17
60	$y=1,3494x+26,739$	0,9905	17,23

Pengukuran Absorbansi Kuersetin dan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Uji aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang

maksimum 515 nm dengan waktu inkubasi selama 40 menit. Dari hasil pembacaan pada spektrofotometri UV-Vis didapatkan data absorbansi kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau yang kemudian data absorbansi tersebut diolah menjadi data % inhibisi. Data nilai % inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.4 dan 5.5.

Tabel 5.4 Hasil Data % Inhibisi Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	Nilai r^2
1	5	0,530	16,27	$y=3,0488x+1,972$	0,9924
	10	0,425	32,85		
	15	0,338	46,60		
	20	0,204	67,77		
	25	0,158	75,03		
2	5	0,528	16,58	$y=3,0562x+2,211$	0,9927
	10	0,423	33,17		
	15	0,336	46,91		
	20	0,202	68,08		
	25	0,156	75,53		
3	5	0,526	16,90	$y=3,046x+2,678$	0,9924
	10	0,420	33,64		
	15	0,334	47,23		
	20	0,200	68,40		
	25	0,154	75,67		
Blanko	0,633				

Tabel 5.5 Hasil Data % Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	Nilai r^2
1	50	0,420	33,96	$y=0,244x+20,5$	0,9817
	100	0,375	41,03		
	150	0,252	60,37		
	200	0,195	69,33		
	250	0,122	80,81		
2	50	0,418	34,27	$y=0,245x+20,701$	0,981
	100	0,374	41,19		
	150	0,250	60,69		
	200	0,191	69,96		
	250	0,120	81,13		
3	50	0,416	34,59	$y=0,2456x+20,986$	0,9822
	100	0,371	41,66		
	150	0,248	61,00		
	200	0,190	70,12		
	250	0,116	81,76		
Blanko	0,636				

Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Hasil nilai absorbansi kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau dihitung dan didapatkan nilai % inhibisi. Data % inhibisi kemudian diolah menjadi persamaan regresi linier $y=bx+a$. Data % inhibisi sebagai ordinat (sumbu y) dan data konsentrasi sampel sebagai absis (sumbu x), hasil dari perhitungan tersebut akan diperoleh nilai IC₅₀. Data nilai IC₅₀ dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Nilai IC₅₀ Kuersetin

Replikasi	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)	$\bar{x} \pm SD$	RSD	Kategori
1	15,75			
2	15,63	15,6366 ± 0,11015	0,704443	Sangat kuat
3	15,53			

Tabel 5.7 Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Replikasi	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)	$\bar{x} \pm SD$	RSD	Kategori
1	120,90			
2	119,58	119,5367 ± 1,38551	1,159066	Sedang
3	118,13			

Hasil Analisis Data

Data hasil nilai IC₅₀ kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau diolah menggunakan SPSS. Data nilai IC₅₀ dianalisa menggunakan *Independent Sample T-test*. Syarat untuk melakukan analisa menggunakan *Independent Sample T-test* melakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*, data dikatakan terdistribusi normal jika nilai *sig value* >0,05 dimana nilai *sig value* kuersetin 0,900 dan ekstrak etanol daun sirih hijau 0,948. Data dikatakan homogen jika nilai *sig value* >0,05 dimana nilai *sig value* yang didapatkan yaitu 0,127. Setelah diuji normalitas dan homogenitas data kemudian

diuji menggunakan *Independent Sample T-test*. Data dikatakan terdapat perbedaan signifikan jika nilai *sig value* $< 0,05$, hasil dari uji statistik diperoleh nilai *sig value* 0,000. Hasil dari analisa tersebut dapat disimpulkan bahwa H1 diterima dan H0 ditolak karena uji aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau terdapat perbedaan signifikan. Hasil analisa statistik dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Hasil uji statistik

Senyawa	P value
Kuersetin	0,000
Ekstrak etanol daun sirih hijau	

BAB 6 PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*)

Tanaman daun sirih hijau diperoleh dari Jatiroto kabupaten Lumajang daun sirih hijau diambil yang segar. Daun sirih hijau telah diketahui kebenarannya dengan melakukan determinasi di UPA (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran sampel yang digunakan untuk penelitian (Maridana, 2021). Pada hasil determinasi menyatakan bahwa daun sirih hijau (*Piper betle L*) yang termasuk dalam famili *Piperaceae*.

Daun sirih hijau yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun sirih hijau kemudian daun yang sudah disortasi basah diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa-sisa air. Setelah diangin-anginkan daun sirih hijau dirajang dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu $\pm 55^{\circ}\text{C}$, daun sirih hijau yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Tujuan dilakukan penghalusan pada simplisia yaitu untuk memperluas permukaan simplisia karena semakin luas permukaan simplisia maka semakin mudah pelarut menembus sel tanaman sehingga bisa menarik senyawa aktif (Riduana dkk, 2021).

Proses ekstraksi daun sirih hijau dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Proses ekstraksi maserasi dilakukan selama 3 hari dan dilakukan re-maserasi selama 3 hari. Tujuan dilakukan re-maserasi yaitu untuk memaksimalkan penyarian zat aktif yang terkandung dalam simplisia (Anjaswati dkk, 2021). Proses ekstraksi maserasi dilakukan dengan menimbang 300 gram

serbuk daun sirih hijau dan dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 900 ml, selama proses ekstraksi sesekali dilakukan pengadukan sebanyak 1 kali dalam 24 jam hal ini agar senyawa yang terdapat pada ekstrak dapat tertarik dengan maksimal. Prinsip kerja dari ekstraksi maserasi yaitu *like dissolve like* dimana senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam suhu kamar dan terhindar dari cahaya. Pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang terkandung zat aktif. Zat aktif dan pelarut akan bertemu dan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut (Badaring dkk, 2020). Proses pengentalan ekstrak dilakukan untuk mengetahui nilai % rendemen. Proses pengentalan ekstrak dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C.

Nilai % Rendemen

Hasil ekstrak kental yang diperoleh sebesar 49,32 gram dari 300 gram serbuk daun sirih hijau dan dihasilkan nilai % rendemen sebesar 16,44%. Nilai % rendemen didapatkan dengan membandingkan berat ekstrak kental dan berat simplisia kemudian dikalikan 100 persen. Nilai % rendemen berhubungan dengan banyaknya senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi karena semakin besar nilai rendemen maka semakin baik dan semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi. Syarat nilai rendemen yang baik yaitu tidak kurang dari 10% (Rusman dkk, 2023). Pada penelitian ini diperoleh nilai % rendemen yaitu sebesar 16,44% sehingga dikatakan baik karena sudah sesuai persyaratan. Metode

ekstraksi maserasi memiliki nilai % rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi secara dingin lainnya seperti perkolasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Handayani dkk (2016) metode ekstraksi maserasi memperoleh nilai % rendemen sebesar 17,32% sedangkan perkolasi sebesar 15,38%. Pada penelitian Fatmawati (2019) nilai % rendemen maserasi lebih besar dibandingkan dengan perkolasi yaitu sebesar 42,15%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna menggunakan suatu pereaksi warna (Susanti, 2019). Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung tannin, saponin, flavonoid dan alkaloid. Ekstrak daun sirih hijau dikatakan positif tanin jika terdapat perubahan warna menjadi hijau atau biru kehitaman, perubahan warna tersebut terjadi karena terdapat reaksi yang terjadi antara gugus senyawa tannin dengan reagen FeCl 1% yang dimana ketika senyawa tersebut bereaksi maka akan terjadi perubahan warna pada ekstrak menjadi hijau atau biru kehitaman (Putri dkk, 2020). Ekstrak etanol daun sirih hijau dikatakan positif saponin jika terdapat endapan, hal ini terjadi karena saponin memiliki dua gugus hidofilik dan gugus hidrofobik. Penambahan HCl pada pengujian saponin menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya, karena dalam keadaan tersebut gugus yang bersifat polar (hidrofilik) akan menghadap ke luar dan gugus non-polar (hidrofobik) menghadap ke dalam dan membentuk struktur misel.

Keadaan ini akan membentuk busa yang menjadi tanda adanya senyawa saponin dalam ekstrak (Putri dkk, 2020). Ekstrak etanol daun sirih hijau dikatakan positif flavonoid jika terjadi perubahan warna menjadi merah hingga jingga, hal ini terjadi karena senyawa flavonoid akan tereduksi dengan magnesium dan HCl sehingga menghasilkan warna merah hingga jingga (Sulistyarini dkk, 2020). Ekstrak etanol daun sirih hijau positif alkaloid jika terbentuk endapan kuning jingga atau putih, hal ini terjadi karena adanya reaksi senyawa alkaloid yang terkandung pada ekstrak bereaksi dengan HgCl₂ sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan warna (Kurang dkk, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh Rukmini dkk (2019) menyatakan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirih hijau menggunakan metode ekstraksi maserasi mengandung senyawa steroid, alkaloid dan flavonoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurdianti (2016) menyatakan bahwa skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirih hijau dengan metode ekstraksi maserasi dan pelarut 96% mengandung saponin, tanin, polifenol. Hasil skrining fitokimia yang diperoleh berbeda-beda hal ini disebabkan karena metode uji yang digunakan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada sampel yang diuji, tanah tempat tanaman tumbuh dan ketinggian tanah tempat tanaman tumbuh (Vita dkk, 2018).

Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal terhadap senyawa radikal DPPH (*2,2-difenil-1-1 pikrilhidrazil*). Tujuan diuji aktivitas antioksidan yaitu untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa aktif yang ada didalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan dalam peredaman radikal bebas. Prinsip kerja DPPH yaitu senyawa antioksidan akan mendonorkan

atom hidrogennya pada radikal DPPH sehingga menyebabkan DPPH menjadi bentuk tereduksi yang bersifat nonradikal. DPPH nonradikal ditandai dengan hilangnya warna ungu. Pudarnya warna ungu pada senyawa DPPH ditandai dengan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis sehingga bisa diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas nilai IC_{50} , semakin kecil nilai nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan dan semakin besar % inhibisi maka semakin pudar warna yang dihasilkan (Puspitasari dkk, 2016).

Pada penelitian ini pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dimana sebelum dilakukan pengukuran absorbansi tahap pertama yang dilakukan yaitu menentukan panjang gelombang maksimum DPPH. Optimasi panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui serapan maksimal dan memperoleh kepekaan lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan (Agustiarini dkk, 2022). Hasil yang diperoleh dari optimasi panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 515 nm dengan absorbansi 0,223. Pada penelitian yang dilakukan oleh Febrianti dkk (2021) hasil optimasi panjang gelombang maksimum DPPH yaitu sebesar 516 nm dengan nilai absorbansi 0,692. Damanis (2020) Panjang gelombang maksimum yang digunakan yaitu 517 nm. Panjang gelombang DPPH yang berbeda-beda terjadi karena beberapa faktor yaitu jenis spektrofotometri UV-Vis, pelarut, jenis kuvet dan konsentrasi DPPH yang berbeda (Latief dkk, 2013).

Optimasi waktu inkubasi pada penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan senyawa DPPH dan senyawa uji bereaksi

secara optimum sehingga menghasilkan serapan yang stabil (Saptari dkk, 2019). Optimasi waktu inkubasi diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm selama 60 menit dari menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan

selang waktu 10 menit. Hasil optimasi waktu inkubasi pada penelitian ini didapatkan pada menit ke-40, hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 5.3. Penentuan optimasi waktu inkubasi dengan melihat nilai r^2 yang mendekati 1 dan nilai IC_{50} yang terendah (Rizkayanti dkk, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Khairunnisa dkk, (2022) menyatakan bahwa kuersetin optimum pada menit ke-40.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih hijau dan kuersetin sebagai pembanding dilakukan dengan membuat 5 seri konsentrasi dengan 3 kali replikasi. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali bertujuan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan dalam analisa sampel dan pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas (Diana, 2022). Larutan DPPH yang direaksikan dengan larutan uji dan larutan pembanding diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan inkubasi waktu selama 40 menit. Hasil absorbansi DPPH sebelum dan sesudah ditambahkan larutan uji dihitung sebagai nilai % inhibisi. Hasil dari nilai % Inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.4 dan 5.5.

Semakin besar konsentrasi maka semakin kecil nilai absorbansi yang didapat. Semakin tinggi nilai % inhibisi maka semakin kecil nilai IC_{50} (Moniung dkk, 2022). Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan pada kuersetin yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm dan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau yang digunakan yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm, konsentrasi sampel yang digunakan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Yuliawati

dkk, 2023). Pada penelitian ini konsentrasi kuersetin yang digunakan berbeda dengan ekstrak etanol daun sirih hijau karena kuersetin merupakan senyawa antioksidan alami golongan flavonol sehingga dengan konsentrasi kecil kuersetin sudah bisa memberikan aktivitas antioksidan (Andarina dkk, 2017). Konsentrasi ekstrak lebih tinggi dibandingkan dengan kuersetin karena ekstrak etanol daun sirih merupakan sampel yang didalamnya terdapat beberapa kandungan senyawa lainnya dan masih belum diketahui aktivitas antioksidannya (Cahyono dkk, 2021).

Data absorbansi yang diperoleh dari ekstrak etanol daun sirih hijau dan kuersetin kemudian dapat dihitung nilai % inhibisi dan didapatkan persamaan regresi linier yang diperoleh data % inhibisi sebagai ordinat (sumbu y) dan konsentrasi sampel sebagai absis (sumbu x) sehingga bisa ditentukan nilai IC_{50} . Hasil dari uji aktivitas antioksidan bisa dilihat pada tabel 5.6 dan 5.7. Pada grafik persamaan regresi linier nilai r^2 kuersetin yang diperoleh dari 3 kali replikasi yaitu pada replikasi 1 (0,9924), replikasi 2 (0,9927) dan pada replikasi 3 (0,9924) dan nilai r^2 pada ekstrak etanol daun sirih hijau pada replikasi 1 (0,9817), replikasi 2 (0,981) dan pada replikasi 3 (0,9822). Nilai r^2 dikatakan baik jika mendekati 1, sehingga semakin mendekati 1 maka nilai r^2 semakin baik. Dari ketiga replikasi tersebut kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki nilai r^2 yang baik. Nilai IC_{50} kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki rata-rata yaitu sebesar $15,6366 \pm 0,11015$ dan $119,5367 \pm 1,38551$. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki aktivitas antioksidan sedang. Hasil data nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel 5.6 dan 5.7.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Andriani dkk (2020) pengujian aktivitas antioksidan dengan metode maserasi dan pelarut etanol 70% diperoleh nilai IC_{50} 41,36 $\mu\text{g/ml}$ dengan kategori sangat kuat, pada penelitian lain yang dilakukan oleh Sayuti (2017) pengujian aktivitas antioksidan dengan pelarut metanol menggunakan metode ekstraksi maserasi diperoleh nilai IC_{50} sebesar 773,86 $\mu\text{g/ml}$ dengan kategori lemah. Artanti dkk, (2018) melakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% diperoleh nilai IC_{50} sebesar 105,80 $\mu\text{g/ml}$ dengan kategori sedang. Perbedaan nilai IC_{50} yang diperoleh dan kekuatan aktivitas antioksidan disebabkan karena beberapa faktor yaitu metode ekstraksi yang digunakan, pelarut yang digunakan, konsentrasi DPPH dan adanya faktor lingkungan seperti tanah tempat tanaman tumbuh, pengaruh suhu dan cuaca (Puryono dkk, 2020).

Nilai IC_{50} kuersetin memiliki nilai lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sirih hijau sehingga aktivitas antioksidan kuersetin lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih hijau. Hal ini disebabkan karena kuersetin merupakan senyawa murni golongan flavonol yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, sedangkan ekstrak etanol daun sirih hijau merupakan ekstrak kental yang masih terkandung berbagai senyawa lainnya sehingga ekstrak belum murni (Gayatri, 2021).

Hasil data nilai IC_{50} kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau dianalisa menggunakan *Independent Sample T-test*. Pada hasil uji normalitas kuersetin nilai *sig value* 0,900 dan nilai *sig value* ekstrak etanol daun sirih hijau 0,948, dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal karena nilai *sig value*

>0,05. Hasil data homogenitas dinyatakan homogen karena nilai *sig value* yang diperoleh >0,05 yaitu 0,127. Hasil data setelah dianalisa dengan *Independent Sampel T-test* diperoleh nilai *sig* 0,000. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada uji aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak etanol daun sirih hijau karena nilai *sig value* yang diperoleh <0,05, yang artinya H1 diterima dan H0 ditolak.

BAB 7 KESIMPULAN

Kesimpulan

1. Kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L) adalah tanin, saponin, flavonoid dan alkaloid.
2. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L) sebesar 119,5367 µg/ml dalam kategori sedang.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antioksidan dengan metode ekstraksi lainnya yang berbeda dan pelarut yang berbeda, untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L).

DAFTAR PUSTAKA

- Achyadi, N. S., Y. Taufik, dan D. I. Khairunissa. 2018. Pengaruh konsentrasi bubuk buah dan tepung kedelai terhadap karakteristik fit bar black mulberry. *Pasundan Food Technology Journal*. 4(3):248.
- Agustiarini, V., & Wijaya, D. P. 2022. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air (1: 1) bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Penelitian Sains*, 24(1), 29-32.
- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (*Black Garlic*) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *AlKaunyah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39–50.
- Aini, Q. 2022. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*morinda citrifolia* l) dengan metode dpph uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mengkudu (*morinda citrifolia* l) dengan metode dpph.
- Andarina, R. and Djauhari, T. 2017 ‘Antioksidan Dalam Dermatologi’, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), pp. 39–48.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. 2021. Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris* L.) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 2(1), 32-37.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R. 2020. Uji ekstrak daun maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16.
- Cahyaningsih, E., P. E. S. K. Yuda, dan P. Santoso. 2019. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang (*clitoria ternatea* l.) dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 5(1):51– 57.
- Cahyono, B. et al. 2021 ‘Penentuan Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin dan Ekstrak Lengkuas Menggunakan HPLC dan UV-Vis’, *Alchemy*, 8(2), pp. 24–32. doi: 10.18860
- Charlina, W. 2016. Pengaruh penambahan buah mengkudu (*morinda citrifolia* l.) terhadap aktivitas antioksidan dan kadar kafein biji kopi robusta (*coffea canephora*). *Universitas Bengkulu*. 34.
- Das, S., A. Ray, N. Nasim, S. Nayak, dan S. Mohanty. 2019. Effect of different extraction techniques on total phenolic and flavonoid contents, and antioxidant activity of betelvine and quantification of its phenolic constituents by validated hptlc method. *3 Biotech*. 9(1):1–8.
- Dewi, R. Z., A. Dari, D. Mengkudu, P. S. S.- Farmasi, S. Bakti, dan T. Husada. 2021. Terhadap uji aktivitas antioksidan dari daun. 1–3.

- Diana Serlahwaty, Setyorini Sugiastuti, dan Rizka Chandra Ningrum. 2011. Aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol 70% daun sirih hijau (*piper betle* l.) dan sirih merah (*piper cf. fragile benth.*) dengan metode peredaman radikal bebas dpph. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 9(2):2.
- Dr.dr.EM Sutrisna, Mk. 2013. Penyakit degeneratif. *Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Hakim, A. R. dan R. Saputri. 2020. Narrative review: optimasi etanol sebagai pelarut senyawa flavonoid dan fenolik. *Jurnal Surya Medika*. 6(1):177–180.
- Hanani. 2019. *Analisis Fitokimia*. 9. Jakarta Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Handoyo, D. L. Y. 2020. Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34-41.
- Harefa, D. 2020. Pemanfaatan hasil tanaman sebagai tanaman obat keluarga (toga). *Madani : Indonesian Journal of Civil Society*. 2(2):28–36.
- Hasnaeni, H., & Wisdawati, W. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman Kayu Beta-beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(Journal)*, 5(2), 175-182.
- Ikhlas, N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum Linn*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ikrima, K., R. Amalia, Mutakin, dan J. Levita. 2020. Peran spesies oksigen reaktif pada inflamasi serta antioksidan alami sebagai fitoterapi. *Farmaka*. 17(3):198–211.
- Indra, C. 2020. Uji aktivitas antioksidan beberapa kopi robusta (*coffea canephora pierre.*) yang ada di sulawesi selatan dengan menggunakan metode abts (2,2azinobis(3-etilbenzotiazolin)6-asam sulfonat)ethylbenzothiazoline)6-sulfonic acid)
- Ismawati, A. 2016. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode dpph pada ekstrak etanol daun tanjung (*mimusops elengi l*) melalui ekstraksi refluks = uji aktivitas antioksidan dengan dpph pada ekstrak etanol daun tanjung menggunakan ekstraksi refluks. 1–7.
- Kesuma, Y. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*
- Khairunnisa, S., Hakim, A. R., & Audina, M. (2022). P Perbandingan Kadar Flavonoid Total Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etanol Dari Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica [L] Urban*): Perbandingan Kadar Flavonoid Total Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etanol Dari Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica [L] Urban*). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(1), 121-131.
- Krisnawan, A. H., R. Budiono, D. R. Sari, dan W. Salim. 2017. Potensi antioksidan ekstrak kulit dan perasan daging buah lemon (*citrus lemon*) lokal dan impor. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional*. 1(1):30–34.

- Kurang, R. Y., & Adang, B. 2018. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Dengan Metode 1, 1Difenil-2-Pikrylhidrazyl (Dpph). *Partner*, 23(1), 567-574.
- Lestari, D., Dwi, M., Pratiwi, J., & Saputri, L. H. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 3(3), 162-173.
- Luditasari, D. F. A., Puspitasari, A., & Lestari, I. 2019. Aktivitas Antioksidan Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Segar dan Dengan Pengolahan. *Analisis Kesehatan Sains*, 8(2).
- Maulidatul Zulfah, Wilda Amananti, J. S. 2021. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih hijau (*piper betle* l .) dan daun sirih merah (*piper crocatum*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. x(x):1-7.
- Mardiana, E. 2021. Uji Efektivitas Larvasida Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti* (Doctoral dissertation, Universitas Mataram)
- Moniung, P., Singkoh, M., & Butarbutar, R. 2022. Potensi Alga *Halymenia durvillei* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Bios Logos*, 12(1), 39-45.
- Mustamin, Muhammad Iqbal., Rustam, Nuraisyah., & Kasman, Kasman. 2016. Analisis Nilai Absorbansi Kadar Flavonoid Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.). *Gravitasi*, 15(1).
- Naufalza, A. 2021. Manfaat daun sirih pada pencegahan penyakit jantung koroner. *Journal of Hoslistic and Tradisional Medicine*. 02(02):595-599.
- Nitasari, D. (2019). Perbandingan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Hasil Maserasi Dan Perkolasi Berdasarkan Analisa Spektrofotometri UV-Vis (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang).
- Nyoman Citra Suryani, Dewa Gede Mayun Permana2, A. A. G. N. A. J. 2016. PENGARUH jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa (*pometia pinnata*). 1-10.
- Pambudi, D. B., Slamet, dan S. Mardiana. 2017. (*Foeniculum vulgare mill.*) dengan metode dpph. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*. (8)
- Pizzino, G., N. Irrera, M. Cucinotta, G. Pallio, F. Mannino, V. Arcoraci, F. Squadrito, D. Altavilla, dan A. Bitto. 2017. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017
- Prastiwi, R. 2019. Penggunaan Larutan Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Sebagai Larvasida Terhadap Kematian Larva Nyamuk (*Aedes Aegypti*). *Skripsi*.

- Puspitasari, E., & Ningsih, I. Y. (2016). Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 13(1), 116-126.
- Putri, A. K., Q. E. Satwika, Y. Sulistyana, dan Z. Arindias. 2019. Studi morfologi piper betle l. dan pemanfaatannya dalam kehidupan sehari – hari. *Universitas Sebelas Maret*. 1–7.
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2(3), 120-125.
- Riduana, T. K., Isnindar, I., & Luliana, S. 2021. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.) Dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* Linn.). *Media Farmasi*, 17(1), 16-24.
- Rivai, H., Nanda, P. E., & Fadhilah, H. 2017. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun sirih hijau (*Piper betle* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 133144.
- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M., & Jura, M. R. 2017. Uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 125-131.
- Rusman, A., Nugroho, A. E., Pramono, S., Herman, H., Faisal, M., Junaidin, J., & Haeruddin, H. 2023. Karakterisasi Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burn (f) Ness) dan Pegagan (*Centella asiatica* (l) Urban): Characterization Extract Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burn (f) Ness) and Pegagan (*Centella asiatica* (l) Urban). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(2), 164-171.
- Saptari, T., Triastinurmiatiningsih, T., Sari, B. L., & Sayyidah, I. N. 2019. Kadar Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumpun Laut Coklat (*Padina australis*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 1-8.
- Sarma, C., P. Rasane, S. Kaur, Jyoti Singh, Joginder Singh, Y. Gat, U. Garba, D. Kaur, dan K. Dhawan. 2018. Antioxidant and antimicrobial potential of selected varieties of piper betle l. (betel leaf). *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*. 90(4):3871–3878.
- Siyoto Sandu; Sodik M. Ali 2015 *Dasar Metodologi Penelitian*. Edited by Ayup. Yogyakarta: Literasi Media Publishing.
- Sudarwati, T. P. L. dan M. A. H. F. Fernanda. 2019. *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica Papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes Aegypti*
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik*.

- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).
- Supardi, Sudibyoo., Surahman., 2014, *Metodologi Penelitian Untuk Mahasiswa Farmasi*, Jakarta, Trans Indo Media
- Suparyanto dan Rosad. 2020. Karakteristik dan aktivitas antioksidan edible film dari refined karaginan dengan penambahan minyak atsiri. *Suparyanto Dan Rosad*. 5(3):248–253.
- Surahman, Rachmat, M., & Supriadi, S. 2016. *Metodologi Penelitian (Cetakan Pe)*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Suryadinata, R. V. 2018. Pengaruh radikal bebas terhadap proses inflamasi pada penyakit paru obstruktif kronis (ppok). *Amerta Nutrition*. 2(4):317.
- Tejowati, H. Z. P. 2021. Penetapan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Dikabupaten Jombang Dengan Menggunakan Metode DPPH
- Turangan, A. T. M., D. S. Wewengkang, dan A. Yudistira. 2019. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang mahoni (*swietenia mahagoni jacq.*) menggunakan metode dpph (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Pharmacon*. 8(3):548.
- Warono, D., & Ab, S. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Jurnal Konversi*, 2(1).
- Yuliawati, Y., Rahman, A. O., & Muhaimin, M. (2023). Uji AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 50% BIJI PINANG (*Areca catechu*) DENGAN METODE DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 9(1), 58-63.
- Za, R. N., C. Anwar, dan A. Husna. 2022. Hubungan pengetahuan pasien penyakit degeneratif dengan penerapan program gerakan masyarakat hidup sehat (germas) rumah sakit bhayangkara kota banda aceh relationship of knowledge of gegenerative of degenerative disease with the implementation of a heal. 8(2):1027–1035.
- Zulfah, M., Amananti, W., & Santoso, J. 2021. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) (*Doctoral dissertation, DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama*).

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
 RISET DAN TEKNOLOGI
 POLITEKNIK NEGERI JEMBER
 UPA. 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: 44/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1041/FIKES.UDS/U/II/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Rafli Aditya
 NIM : 19040105
 Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Divisio: Spermatophyta; Subdivisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida (Dicotyledoneae); Subkelas: Magnoliidae; Ordo: Piperales; Famili: Piperaceae; Genus: Piper; Spesies: Piper betle, L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 Maret 2023


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

b. Batang

Batang tanaman sirih memanjat, merayap dengan panjang 1-3 m, berbentuk silindris, beruas-ruas, panjang antar ruas 7-20 cm, pada bagian pangkal mengayu, beralur tegas dan berwarna hijau atau hijau kekuningan.

c. Akar

Tanaman sirih termasuk dalam golongan dikotil dengan sistem perakaran tunggang, dilengkapi akar lekat yang keluar dari tiap buku-buku batang yang berguna untuk melekatkan batang sirih pada tajarnya.

d. Bunga dan Buah

Mejemuk, berbentuk bulir dan berwarna putih. Terletak di ujung dan berhadapan dengan daun, dengan panjang tangkai bulir jantan berkisar 1,5-3 cm dan tangkai bulir betina berkisar 2,5-6 cm. Buah tanaman sirih termasuk buah buni dengan ujung bebas dan membulat, bulir yang telah masak berambut abu-abu, rapat dan memiliki tebal berkisar 1-1,5 cm dengan biji bentuk lingkaran.

f. Kunci Determinasi Tanaman Sirih Hijau

Kunci Determinasi	Keterangan
1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9a, 41b, 42b, 43b, 54b, 59b, 61b, 62b, 63a, 64a, (37) Family <i>Piperaceae</i> , Genus <i>Piper</i> , spesies <i>Piper betle</i> , L.	1b Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati. Sedikit-dikitnya dengan benang sari dan atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga.....2
	2b Tidak ada alat pembelit. Tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjat atau membelit (dengan batang,poros daun atau tangkai daun).....3
	3b Daun tidak berbentuk jarum atau tidak terdapat dalam berkas tersebut diatas.....4
	4b Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan atau bunga berlainan dengan yang diterangkan diatas.....6
	6b Dengan daun yang jelas.....7
	7b Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya.....9
	9a Tumbuh-tumbuhan memanjat atau membelit (Golongan 4)....41
	41b Tumbuh-tumbuhan tidak memanjat dengan akar udara. Daun tidak cylindris.....42
	42b Tumbuhan tidak demikian.....43
	43b Daun tersebar.....54
	54b Daun tunggal.....59
	59b Batang atau daun tidak berduri dan tak berduri tempel.....61
	61b Daun, susunan tulang daun dan bunga tidak demikian62

62b	Benang sari 4-5, atau bunganya tidak jelas, merupakan bulir..63
63a	Bunga tersusun dalam bulir yang tidak bercabang.....64
64a	Bunga tanpa perhiasan bunga. Tiada tangkai putik atau pendek dengan 1-5 kepala putik. Batang dengan ruas yang jelas.....37. Piperaceae
1	Genus: <i>Piper</i>
1a	Daun lunak seperti herba. Daun pelindung melekat pada satu titik pada sumbu bulir. Buah buni sebagian besar tersembunyi dalam sumbu bulir..... Piper betle Tumbuh-tumbuhan memanjat. Batang panjang 5-15 m. Daun berseling atau tersebar, bertangkai, daun penumpu cepat rontok, dan meninggalkan tanda bekas berbentuk cincin. Helaian daun bulat telur sampai memanjang, dengan pangkal daun berbentuk jantung, atau pangkal yang miring dan ujung meruncing, 5-18 kali 2-20 cm. Bunga berkelamin 1, berumah 1 atau 2. Bulir berdiri sendiri, di ujung dan berhadapan dengan daun. Daun pelindung bentuk lingkaran, bulat telur terbalik atau bulat memanjang, panjang 1k 1 mm. Bulir jantan: tangkai 1,5-3 cm. Benang sari 2, sangat pendek. Bulir betina: tangkai 2,5-6 cm; kepala putik 3-5. Buah buni dengan ujung bebas dan membulat. Bulir masak berambut abu-abu, rapat, 1-1,5 cm tebalnya. Biji bentuk lingkaran. Tanaman yang berubah! Liar dalam semak, banyak ditanam di halaman penduduk; 5-700 m. <i>Sirih</i> ; Ind, S. J. Bede, J..... <i>Piper betle</i> , L.

REFERENSI

- C.G.G.J. Van Steenis, G. Den Hoed, S. Bloembergen, dan P.J. Eyma. 2005. *Flora*. PT. Pradnya Paramita: Jakarta.
- C.G.G.J. Van Steenis. 2010. *Flora Pegunungan Jawa (The Mountain Flora of Java)*. Pusat Penelitian Biologi-LIPI: Bogor.
- Muzayyinah. 2008. *Terminologi Tumbuhan*. LPP UNS dan UNS Press: Surakarta.
- Rosanti, D. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Wijayakusuma, H.H.M., Setiawan, D, A.S. Wirian. 1998. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid ke 1,2,3,4. Pustaka Kartika: Jakarta.



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

Jember, 10 Maret 2023

Dibuat oleh:

Ujang Tri Cahyono, S.P,M.M
NIP. 198107082006041003

Lampiran 2. Dokumentasi Proses Pembuatan Ekstrak

<p>Sortasi Basah Daun Sirih</p> 	<p>Perajangan</p> 	<p>Pengeringan</p> 
<p>Penghalusan</p>	<p>Hasil Serbuk</p>	<p>Ekstraksi Maserasi</p>
		
<p>Penguapan Ekstrak</p>	<p>Hasil Ekstrak</p>	
		

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{49,32 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 16,44\%$$

Lampiran 4. Skrining Fitokimia

Pengujian	Dokumentasi	Keterangan
Polifenol		(-) Tidak mengalami perubahan
Tannin		(+) terdapat perubahan warna menjadi biru kehitaman
Saponin		(+) terbentuknya buih

Flavonoid		(+) terjadinya perubahan warna menjadi merah
Alakloid		(+) terbentuknya endapan

Lampiran 5. Perhitungan Larutan Induk DPPH dan Kuersetin

1. Perhitungan Pembuatan Larutan Induk DPPH (40 ppm)

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{v \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{100 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$\text{massa} = \frac{40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 100 \text{ mL}$$

$$= 4 \text{ mg}$$

2. Perhitungan Pembuatan Larutan Induk Kuersetin (100 ppm)

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned}
 \text{massa} &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Dilakukan pengenceran untuk kuersetin

$$\begin{aligned}
 5 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 5 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 0,5 \text{ mL} \\
 &= 500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 10 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mL} \\
 &= 1000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 15 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 15 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1,5 \text{ mL} \\
 &= 1500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 20 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 20 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2 \text{ mL} = 2000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 25 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 25 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 &= \frac{25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2,5 \text{ mL} \\
 &= 2500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

3. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak (1000 ppm)

Larutan Induk

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{100 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{10 \text{ (mL)}} \times 1000 \text{ ppm}$$

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

Dilakukan pengenceran untuk larutan uji ekstrak

$$\begin{aligned}
 50 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 50 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 0,5 \text{ mL} \\
 &= 500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 100 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 100 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mL} \\
 &= 1000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 150 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 150 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1,5 \text{ mL} \\
 &= 1500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 200 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 200 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL} \\ &= 2000 \mu\text{L} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} 250 \text{ ppm} : \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 250 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 2,5 \text{ mL} \\ &= 2500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

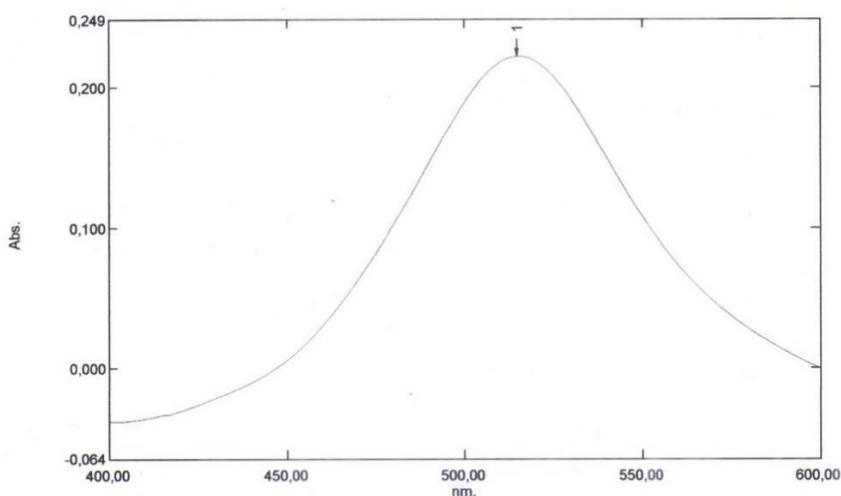
Lampiran 6. *Spectrum Peak Report*

Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Spectrum Peak Pick Report

23/05/2023 12:01:10

Data Set: Panjang Gelombang - RawData



[Measurement Properties]
 Wavelength Range (nm.): 400,00 to 600,00
 Scan Speed: Medium
 Sampling Interval: 1,0
 Auto Sampling Interval: Disabled
 Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		515,00	0,223	

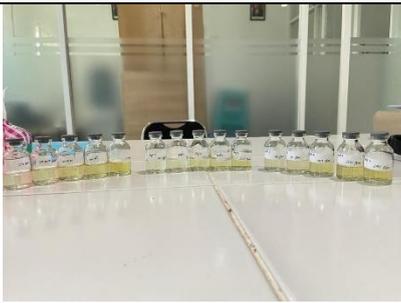
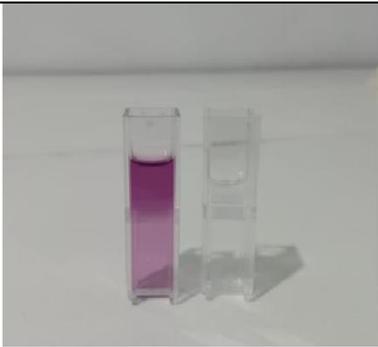
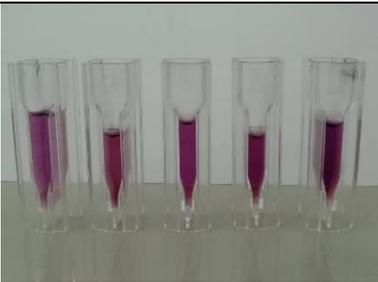
[Instrument Properties]
 Instrument Type: UV-1900 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 1,0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340,8 nm
 S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
 Attachment: None

[Operation]
 Threshold: 0,0010000
 Points: 4
 InterPolate: Disabled
 Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Lampiran 7. Dokumentasi Uji Aktivitas Antioksidan

Dokumentasi	Keterangan
	Spektro fotometer UV-Vis Shimadzu new 1900
	Larutan ekstrak etanol daun sirih hijau
	Larutan Blanko DPPH
	DPPH sebelum diberi kuersetin
	DPPH Setelah diberi kuersetin



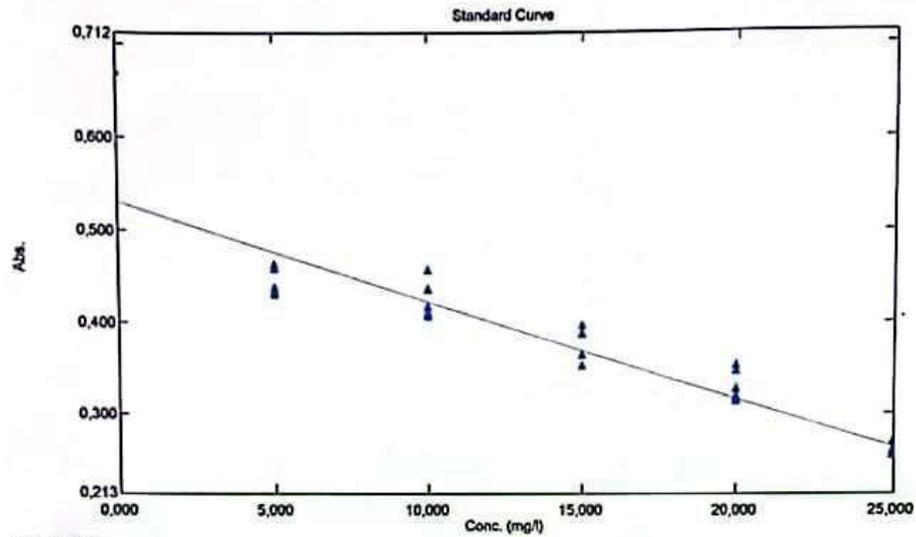
DPPH setelah diberi sampel uji ekstrak etanol daun sirih hijau

Lampiran 8. *Standart Table Report Optimasi Waktu Inkubasi*

Standard Table Report

01/08/2023 13:35:43

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafi optimasi\Nampiran optimasi.pho



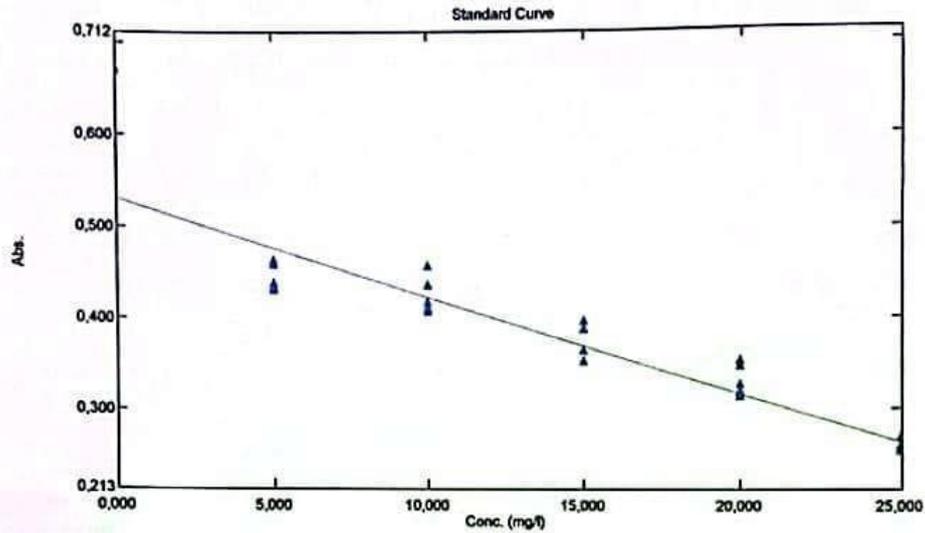
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	WgLFactor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.670	1.000	
2	kuer1mnt10	Standard		5.000	0.465	1.000	
3	kuer2mnt10	Standard		10.000	0.458	1.000	
4	kuer3mnt10	Standard		15.000	0.399	1.000	
5	kuer4mnt10	Standard		20.000	0.355	1.000	
6	kuer5mnt10	Standard		25.000	0.259	1.000	
7	kuer1mnt20	Standard		5.000	0.460	1.000	
8	kuer2mnt20	Standard		10.000	0.438	1.000	
9	kuer3mnt20	Standard		15.000	0.390	1.000	
10	kuer4mnt20	Standard		20.000	0.349	1.000	
11	kuer5mnt20	Standard		25.000	0.269	1.000	
12	kuer1mnt30	Standard		5.000	0.440	1.000	
13	kuer2mnt30	Standard		10.000	0.418	1.000	
14	kuer3mnt30	Standard		15.000	0.365	1.000	
15	kuer4mnt30	Standard		20.000	0.328	1.000	
16	kuer5mnt30	Standard		25.000	0.260	1.000	
17	kuer1mnt40	Standard		5.000	0.432	1.000	
18	kuer2mnt40	Standard		10.000	0.411	1.000	

Standard Table Report

01/08/2023 13:35:44

File Name: C:\Users\ACER\Documents\raffi optimas\Nampiran optimasi.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	WgtFactor	Comments
19	kuer3mnt40	Standard		15.000	0.355	1.000	
20	kuer4mnt40	Standard		20.000	0.315	1.000	
21	kuer5mnt40	Standard		25.000	0.255	1.000	
22	kuer1mnt50	Standard		5.000	0.435	1.000	
23	kuer2mnt50	Standard		10.000	0.409	1.000	
24	kuer3mnt50	Standard		15.000	0.355	1.000	
25	kuer4mnt50	Standard		20.000	0.321	1.000	
26	kuer5mnt50	Standard		25.000	0.255	1.000	
27	kuer1mnt60	Standard		5.000	0.435	1.000	
28	kuer2mnt60	Standard		10.000	0.413	1.000	
29	kuer3mnt60	Standard		15.000	0.354	1.000	
30	kuer4mnt60	Standard		20.000	0.318	1.000	
31	kuer5mnt60	Standard		25.000	0.255	1.000	
32							

Lampiran 9. Perhitungan Nilai IC₅₀

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

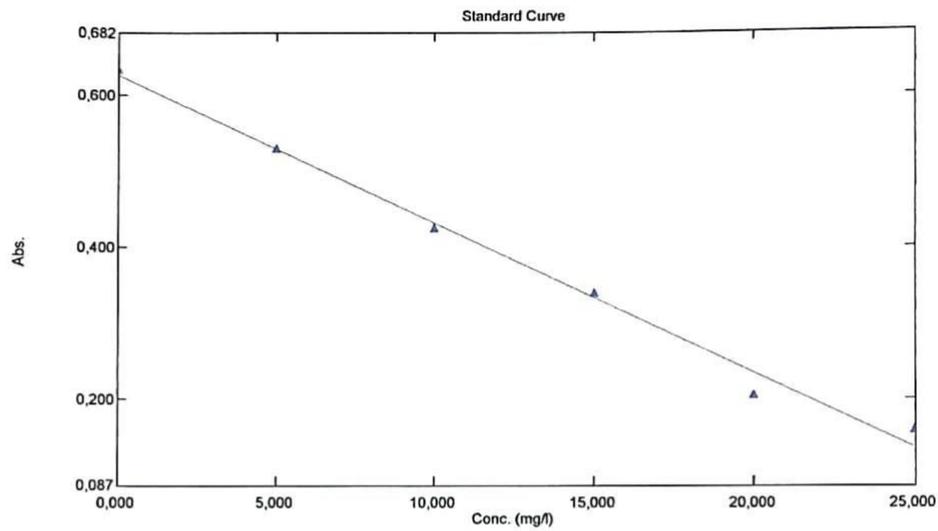
Menit	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀
	Blanko	0,670			
10	5	0,468	30,14	y=1,5256x+19,528 r ² = 0,9687	19,97
	10	0,448	33,13		
	15	0,399	40,44		
	20	0,355	47,01		
	25	0,259	61,34		
20	5	0,460	31,34	y=1,409x+21,995 r ² = 0,9708	19,87
	10	0,438	37,02		
	15	0,390	41,79		
	20	0,348	48,05		
	25	0,269	59,85		
30	5	0,440	34,32	y=1,3464x+25,71 r ² = 0,9861	18,04
	10	0,419	37,70		
	15	0,365	45,52		
	20	0,328	51,04		
	25	0,260	61,19		
40	5	0,434	35,22	y=1,3494x+26,889 r ² = 0,9906	17,12
	10	0,411	38,00		
	15	0,354	47,16		
	20	0,317	52,68		
	25	0,255	61,94		
50	5	0,435	35,07	y=1,346x+26,878 r ² = 0,9907	17,17
	10	0,409	38,70		
	15	0,355	47,01		
	20	0,320	52,23		
	25	0,254	62,08		
60	5	0,435	35,07	y=1,3494x+26,739 r ² = 0,9905	17,23
	10	0,412	38,70		
	15	0,355	47,01		
	20	0,318	52,53		
	25	0,256	61,79		

Lampiran 10. *Standart Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin Replikasi 1*

Standard Table Report

01/08/2023 14:53:58

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafi optimasi\lampiran rep kuer.pho



Standard Table

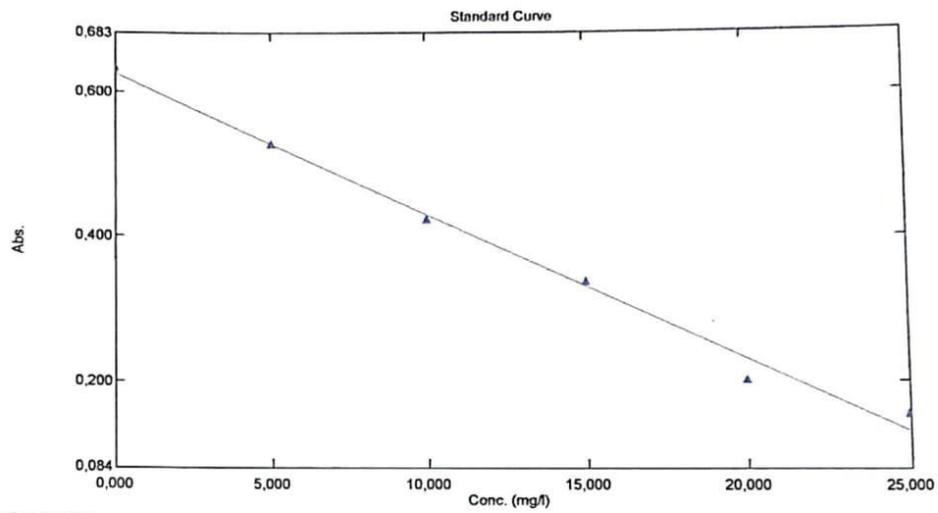
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.633	1.000	
2	kuer1rep1	Standard		5.000	0.530	1.000	
3	kuer1rep2	Standard		10.000	0.425	1.000	
4	kuer1rep3	Standard		15.000	0.339	1.000	
5	kuer4rep1	Standard		20.000	0.204	1.000	
6	kuer5rep1	Standard		25.000	0.159	1.000	
7							

Replikasi 2

Standard Table Report

01/08/2023 14:41:01

File Name: C:\Users\ACER\Documents\raflia optimasi\lampiran rep kuer.pho



Standard Table

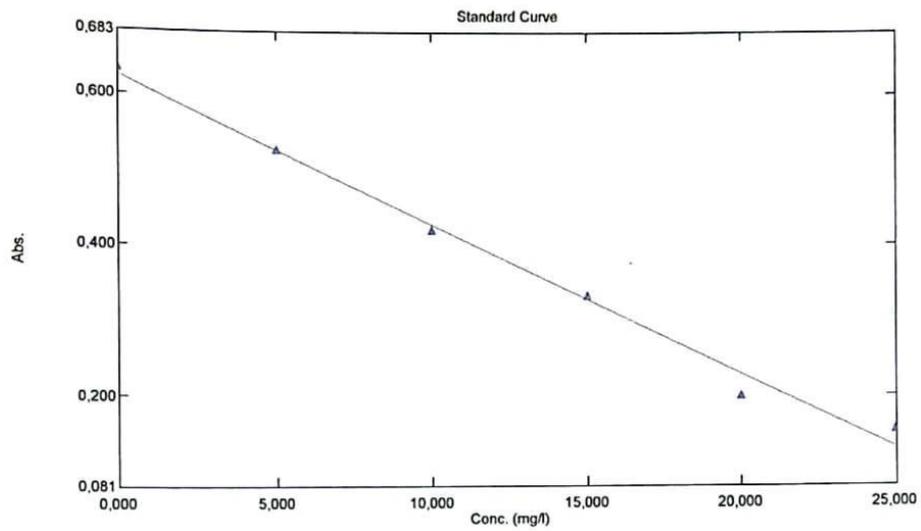
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.633	1.000	
2	kuer1rep2	Standard		5.000	0.528	1.000	
3	kuer2rep2	Standard		10.000	0.423	1.000	
4	kuer3rep2	Standard		15.000	0.336	1.000	
5	kuer4rep2	Standard		20.000	0.202	1.000	
6	kuer5rep2	Standard		25.000	0.156	1.000	
7							

Replikasi 3

Standard Table Report

01/08/2023 15:01:49

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafi optimasi\lampiran rep kuer.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.633	1.000	
2	kuer1rep3	Standard		5.000	0.526	1.000	
3	kuer2rep3	Standard		10.000	0.420	1.000	
4	kuer3rep3	Standard		15.000	0.333	1.000	
5	kuer4rep3	Standard		20.000	0.200	1.000	
6	kuer5rep3	Standard		25.000	0.154	1.000	
7							

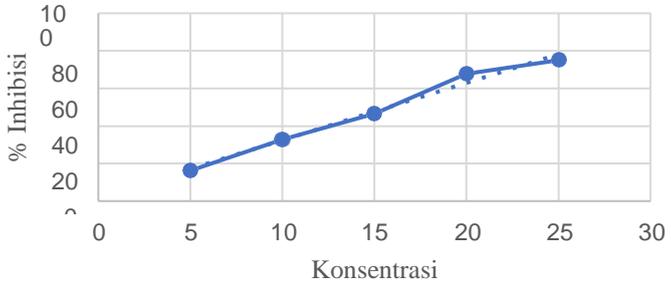
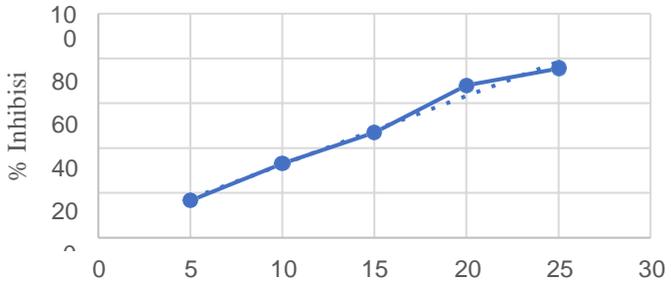
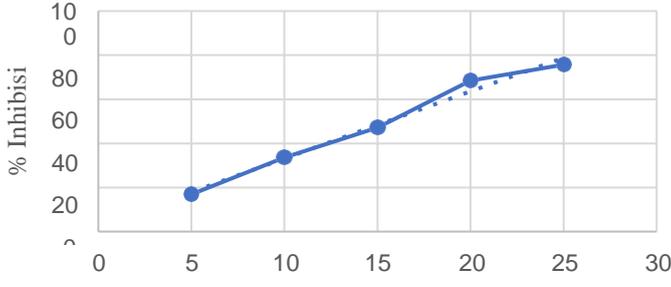
Lampiran 11. Perhitungan Nilai IC₅₀ Kuersetin

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{AbsEkstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Regresi	IC ₅₀
1	Blanko	0,633			15,75
	5	0,530	16,27	y=3,0488x + 1,972 r ² = 0,9924	
	10	0,425	32,85		
	15	0,338	46,60		
	20	0,204	67,77		
	25	0,158	75,03		
2	5	0,528	16,58	y=3,0562x + 2,211 r ² = 0,9977	15,63
	10	0,423	33,17		
	15	0,336	46,91		
	20	0,202	68,08		
	25	0,156	75,53		
3	5	0,526	16,90	y=3,046x + 2,211 r ² = 0,9924	15,53
	10	0,420	33,64		
	15	0,334	47,23		
	20	0,200	68,40		
	25	0,154	75,67		

SD	0,11015
Rata-rata	15,6366

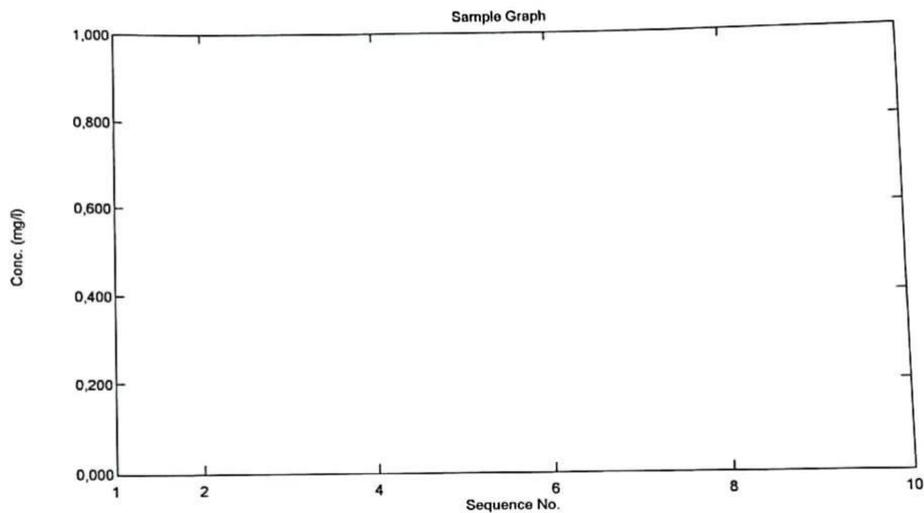
Kurva Linier	Perhitungan IC ₅₀
<p style="text-align: center;">Replikasi 1 $y = 3,0488x + 1,972$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 1,972)}{3,0488}$ $IC_{50} = 15,75$
<p style="text-align: center;">Replikasi 2 $y = 3,0562x + 2,211$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 2,211)}{3,0562}$ $IC_{50} = 15,63$
<p style="text-align: center;">Replikasi 3 $y = 3,046x + 2,678$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 2,678)}{3,046}$ $IC_{50} = 15,53$

Lampiran 12. Standart Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau dengan Metode Maserasi Replikasi 1

Sample Table Report

01/08/2023 15:04:28

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafi optimasi\maserasi rep 1a.pho



Sample Table

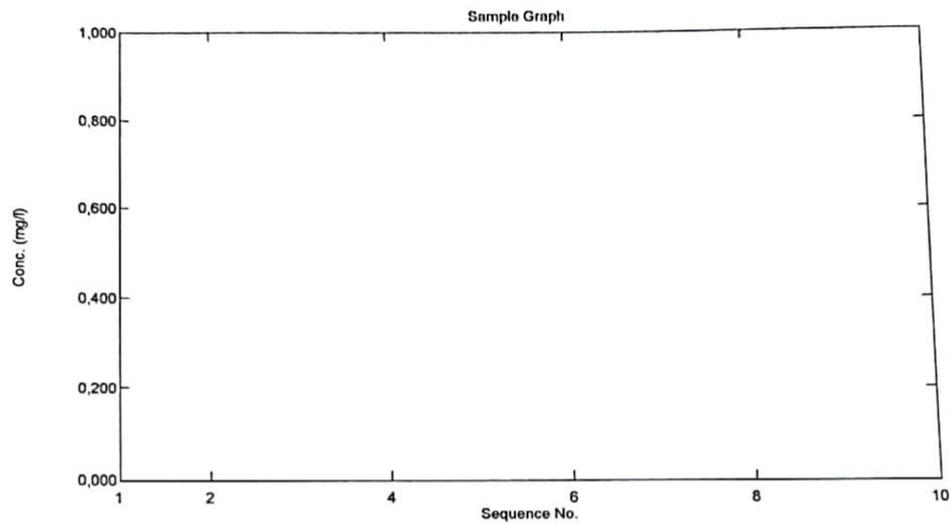
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.636	
2	kons1rep1	Unknown		*****	0.420	
3	kons2rep1	Unknown		*****	0.375	
4	kons3rep1	Unknown		*****	0.252	
5	kons4rep1	Unknown		*****	0.195	
6	kons5rep1	Unknown		*****	0.122	
7						

Replikasi 2

Sample Table Report

01/08/2023 15:04:11

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafla optimasi\maserasi rep 2ng.pho



Sample Table

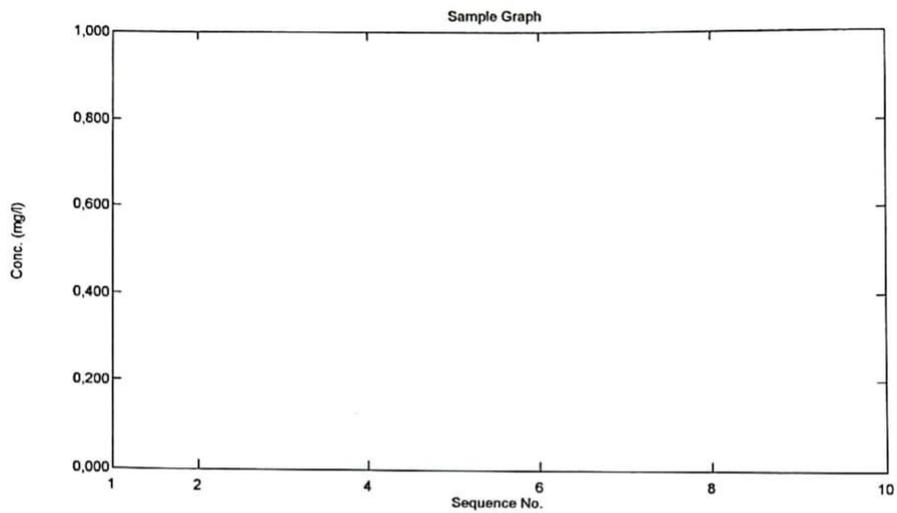
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	kons1rep2	Unknown		*****	0.418	
2	kons2rep2	Unknown		*****	0.374	
3	kons3rep2	Unknown		*****	0.250	
4	kons4rep2	Unknown		*****	0.191	
5	kons5rep2	Unknown		*****	0.120	
6						

Replikasi 3

Sample Table Report

01/08/2023 15:03:56

File Name: C:\Users\ACER\Documents\rafi optimasi\maserasi rep 3 ng.pho



Sample Table						
	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	kons1rep3	Unknown		*****	0.416	
2	kons2rep3	Unknown		*****	0.371	
3	kons3rep3	Unknown		*****	0.248	
4	kons4rep3	Unknown		*****	0.190	
5	kons5rep3	Unknown		*****	0.118	
6						

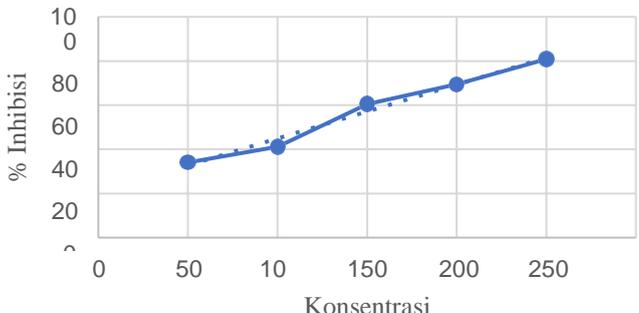
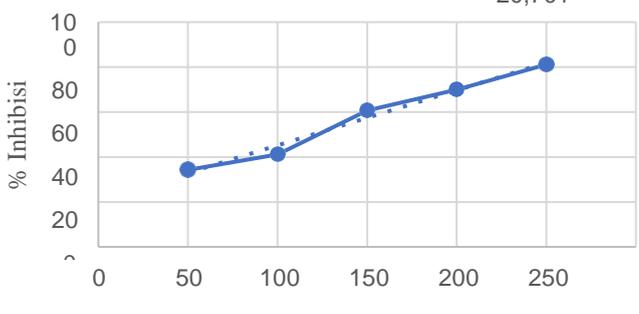
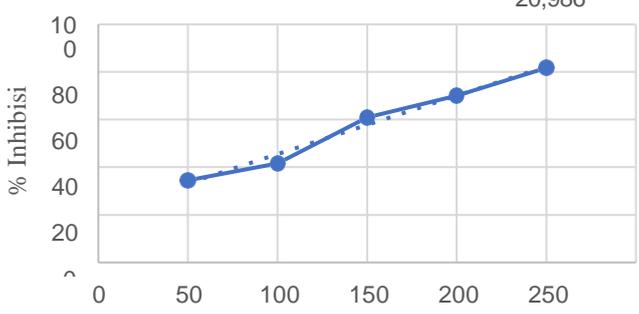
Lampiran 13. Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau dengan Metode Maserasi

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	IC ₅₀
	Blanko	0,636			
1	50	0,420	33,96	y=0,244x+20,5 r ² =0,9817	120,90
	100	0,375	31,03		
	150	0,252	60,37		
	200	0,195	69,33		
	250	0,122	80,81		
2	50	0,418	34,27	y=0,245x+20,701 r ² =0,981	119,58
	100	0,374	31,17		
	150	0,250	60,69		
	200	0,191	69,96		
	250	0,120	81,13		
3	50	0,416	34,59	y=0,2456x+20,986 r ² =0,9877	118,13
	100	0,371	31,00		
	150	0,248	61,00		
	200	0,190	70,12		
	250	0,116	81,76		

SD	1,38551
Rata-rata	119,5367

Kurva Linier	Perhitungan IC ₅₀
<p style="text-align: center;">Replikasi 1 $y = 0,244x + 20,5$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 20,5)}{0,244}$ $IC_{50} = 120,90$
<p style="text-align: center;">Replikasi 2 $y = 0,245x + 20,701$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 20,701)}{0,245}$ $IC_{50} = 119,58$
<p style="text-align: center;">Replikasi 3 $y = 0,2456x + 20,986$</p>  <p style="text-align: center;">Konsentrasi</p>	$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$ $IC_{50} = \frac{(50 - 20,986)}{0,2456}$ $IC_{50} = 118,13$

Lampiran 14. Hasil Analisa Data Uji Aktivitas Antioksidan

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	kuersetin	,191	3	.	,997	3	,900
	ekstrak etanol daun sirih hijau	,179	3	.	,999	3	,948

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,692	1	4	,127

3. Uji *Independent Sample T-test*

Group Statistics

	sampel	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IC50	kuersetin	3	15,6367	,11015	,06360
	ekstrak etanol daun sirih hijau	3	119,5367	1,38551	,79992

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
IC50 Equal variances assumed	3,692	,127	-129,479	4	,000	-103,90000	,80245	-106,12795	-101,67205
IC50 Equal variances not assumed			-129,479	2,025	,000	-103,90000	,80245	-107,31168	-100,48832

Lampiran 15. COA DPPH

TGI		
Certificate of Analysis		
		11/21/2021/JST
		TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD. 4-10-1 Nhonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japar
Chemical Name: 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Free Radical		
Product Number: D4313 CAS RN: 1898-66-4	Lot: WZ400	
Tests	Results	Specifications
Appearance	Black powder	Black powder to crystal
Purity(HPLC)	99.7 area%	min. 97.0 area%

CI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only. The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

Customer Service:
TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD
-mail: globalbusiness@TCIchemicals.com

Takuya Nishioka
Takuya Nishioka
Quality Assurance Department Manager

CS Copyright © 2021 TCI Chemicals

Lampiran 16. COA Kuersetin

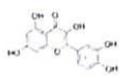


3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
 Website: www.sigmaaldrich.com
 Email USA: techserv@sial.com
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:
QUERCETIN, =95% (HPLC), SOLID

Product Number: Q4951
Batch Number: SLCK5305
Brand: SIGMA
CAS Number: 117-39-5
Formula: C15H10O7
Formula Weight: 302.24 g/mol
Quality Release Date: 10 JUN 2021



Test	Specification	Result
Appearance (Color) Yellow	Conforms	Conforms
Appearance (Form) 1H NMR Spectrum	Powder Conforms to Structure	Powder Conforms
Loss on Drying	< 4 %	1 %
Purity (HPLC)	> 95 %	99 %



Brian Dulle, Supervisor
 Quality Assurance
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



Page 1 of 1

Version Number: 1

