

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI



Oleh:

Ginangjar Basuki

NIM. 17040062

PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

2021

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96%
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI

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



Oleh:

Ginanjari Basuki

NIM. 17040062

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2021**

LEMBAR PERSETUJUAN

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

Jember, 16 September 2021

Pembimbing I



I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep., Ns., M.Kep., Sp.Mat

NIDN. 4005116802

Pembimbing II



apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M. Kes.,

NIDN. 0729098401

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir yang berjudul *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (Syzygium polyanthum) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

hari : Rabu

tanggal : 29 September 2021

tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

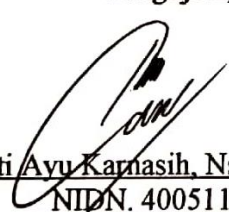
Ketua,



Lulut Sasmito, Ns., M.Kes.

NIK/NIDN. 4009056901

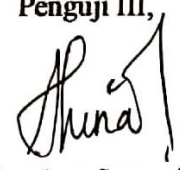
Penguji II,



I Gusti Ayu Karnasih, Ns., M.Kep., Sp.Mat

NIDN. 4005116802

Penguji III,



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes.,

NIDN. 0729098401

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi,



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

NIDN. 0706109104

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

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

MOTTO

"Gantungkan cita-citamu setinggi langit! Bermimpilah setinggi langit. Jika engkau jatuh, engkau akan jatuh di antara bintang-bintang."

Soekarno

"Hal pertama adalah jujur pada diri sendiri. Anda tidak akan pernah bisa berdampak pada masyarakat jika Anda tidak mengubah diri Anda sendiri."

Nelson Mandela

“Usaha dan keberanian tidak cukup tanpa tujuan dan arah perencanaan.”

John F. Kennedy

""Lebih baik jadi orang benar tetapi tidak pintar, daripada menjadi orang pintar tetapi tidak benar""

K.H. Maimun Zubair

“Menyesali nasib tidak akan mengubah keadaan. Terus berkarya dan bekerjalah yang membuat kita berharga.”

K.H. Abdurrahman Wahid

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ginanjar Basuki

NIM : 17040062

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (Syzygium polyanthum) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)*” adalah benar benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 2 November 2021



Ginanjar Basuki
NIM. 17040062

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Oleh :

Ginangjar Basuki
NIM 17040062

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : I Gusti Ayu Karnasih, Ns., M.Kep., Sp.Mat

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes.

ABSTRAK

Basuki, Ginanjar,* Karnasih, I Gusti Ayu,** Susanti, Dhina Ayu***. 2021. **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)”**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu jenis tanaman dari familia *Myrtaceae* yang mempunyai manfaat besar. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder, salah satunya adalah Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan. Ekstraksi senyawa pada daun salam dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*). Penentuan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang memiliki prinsip penurunan intensitas absorbansi DPPH yang sebanding dengan kenaikan konsentrasi senyawa antioksidan yang dinyatakan dalam IC₅₀ (Inhibition Concentration 50). Pengukuran absorbansi menggunakan Spektro UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm. Penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak Daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang di dapatkan dari daerah Kabupaten Banyuwangi dengan nilai IC₅₀ sebesar 231,52 g/ml yang masuk rentang antioksidan sangat lemah.

Kata kunci : Daun salam (*Syzygium polyanthum*), Radikal bebas, DPPH, IC₅₀

*peneliti

**pembimbing 1

***pembimbing 2

ABSTRACT

Basuki, Ginanjar,* Karnasih, I Gusti Ayu,** Susanti, Dhina Ayu***. 2021. “***Antioxidant Activity Test of 96% Ethanol Extract of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum*) Using the DPPH Method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)***”.

Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.

Bay leaf (*Syzygium polyanthum*) is a type of plant from the *Myrtaceae* family that has great benefits. This plant contains secondary metabolites, one of them is flavonoids. Flavonoids are antioxidant compounds. Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. Extraction of compounds in mango leaves was carried out using the maceration method with 96% ethanol and continued with phytochemical screening. This study aimed to test the antioxidant activity of bay leaf extract (*Syzygium polyanthum*). Determination of the antioxidant activity test using the DPPH method which has the principle of decreasing the intensity of the absorbance of DPPH which is proportional to the increase in the concentration of antioxidant compounds expressed in IC₅₀ (Inhibition Concentration 50). Absorbance measurement using UV-VIS spectro with a wavelength of 517 nm. This study shows that the antioxidant activity of bay leaf extract (*Syzygium polyanthum*) obtained from the Banyuwangi Regency with an IC₅₀ value of 231,52 g/ml which is in the range of strong antioxidants.

Key words : Bay leaf (*Syzygium polyanthum*), Free radicals, DPPH, IC₅₀

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya semata sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)“.

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

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. apt. Dhina Ayu, S.Farm.,M.Kes., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
3. I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep., Ns., M.Kep., Sp.Mat selaku pembimbing 1
4. apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes. selaku pembimbing 2
5. Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes. sebagai penguji
6. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
7. Para dosen yang telah memberikan ilmu selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Pak Edi selaku laboran laboratorium kimia STIKES dr Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian;
9. Ibu, Kakak-kakak, Alm Ayah dan Alm Nenek yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, semangat dan Keluarga atau Saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu;
10. Febri, Hafis, Candra, Nisa, yang telah memberi semangat dan banyak membantu penulis dalam melakukan persiapan bahan untuk penelitian serta banyak dukungan lain yang membantu penulis.

11. Novia, Deswita, Hestin, dan Ma'rifa yang menjadi teman pada saat peneliti sedang penelitian di Laboratorium.
12. Teman-teman angkatan 2017 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember

Atas segala kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun ke arah perbaikan dalam penyempurnaan skripsi ini, agar dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Jember, Agustus 2021
Penulis

Ginangjar Basuki
NIM. 17040062

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Persembahan	iv
Motto	v
Pernyataan Orisinalitas Skripsi	vi
Halaman Pembimbingan	vii
Abstrak	viii
Abstract	ix
Kata Pengantar	x
Daftar Isi	xii
Daftar Tabel	xvi
Daftar Gambar	xvii
Daftar Lampiran.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4

1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain	5
1.4.3 Manfaat bagi Masyarakat	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tinjauan Tanaman Salam	8
2.1.1 Morfologi	8
2.1.2 Taksonomi	11
2.1.3 Kandungan Kimia	11
2.2 Ekstraksi	12
2.2.1 Macam-Macam Metode Ekstraksi	14
2.3 Radikal Bebas	18
2.3.1 Definisi.....	18
2.3.2 Sifat	21
2.3.3 Sumber	22
2.3.4 Mekanisme.....	25
2.4 Antioksidan.....	25
2.5 Spektrofotometri Uv-Vis.....	27
2.5.1 Definisi.....	27
2.5.2 Instrumen.....	29

2.5.3 Syarat Pengukuran.....	30
2.5.4 Prinsip Kerja.....	31
2.6 Metode Uji Aktivitas Antioksidan.....	31
2.6.1 DPPH	31
2.6.2 ABTS	33
2.6.3 TRAP.....	34
2.6.4 TOSCA.....	35
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL	37
3.1 Kerangka Konseptual.....	37
3.2 Hipotesis.....	38
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	39
4.1 Jenis Penelitian	39
4.2 Populasi Sampel.....	39
4.2.1 Populasi	39
4.2.2 Sampel.....	39
4.3 Tempat Penelitian	39
4.4 Waktu Penelitian.....	39
4.5 Definisi Operasional	40
4.5.1 Variabel Penelitian	40
4.5.2 Definisi Operasional.....	41
4.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data.....	42
4.6.1 Alat dan Bahan.....	42

4.6.2 Determinasi Daun Salam.....	42
4.6.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Salam.....	43
4.6.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam	43
4.6.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	43
4.7 Pengolahan Data	47
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	49
5.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	49
5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	49
5.3 Ekstraksi.....	49
5.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	50
5.4.1 Penentuan Absorbansi DPPH.....	50
5.4.2 Pengukuran Absorbansi Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin..	50
5.4.3 Nilai IC50 Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin.....	52
BAB 6. PEMBAHASAN	56
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	62
7.1 Kesimpulan.....	62
7.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Peneliti.....	6
Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	41
Tabel 5.1 Hasil Absorbansi DPPH	50
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak dan Kuersetin.....	51
Tabel 5.3 Hasil % inhibisi dan IC50.....	53
Tabel 5.4 Nilai IC 50 Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp	9
Gambar 2.2 Daun Salam	9
Gambar 2.3 Contoh Ekstraksi dengan Cara Maserasi	15
Gambar 2.4 Alat Perkolasi	16
Gambar 2.5 Alat Refluks.....	17
Gambar 2.6 Alat Soxhlet.....	18
Gambar 2.7 Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis <i>single-beam</i>	29
Gambar 2.8 Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis <i>double-beam</i>	30
Gambar 2.9 Bentuk Radikal DPPH Menjadi Nonradikal	32
Gambar 2.10 Pembentukan Radikal Peroksil dari ABAP	35
Gambar 2.11 Reaksi Antara ROO dan KMBA	36
Gambar 3.1 Gambar Kerangka Konseptual	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lmapiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan.....	68
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....	69
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	73
Lampiran 4. Perhitungan DPPH	73
Lampiran 5. Perhitungan Larutan Ekstrak dan Kuersetin	73
Lampiran 6. Perhitnugan % Inhibisi	74
Lampiran 7. Grafik IC50.....	80

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki berbagai jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan, diantaranya obat tradisional, minuman herbal atau jamu. Pemanfaatan tumbuh-tumbuhan sebagai obat-obatan sudah menjadi tradisi dan budaya khusus masyarakat di pedesaan. Sejak tahun 1985, WHO (*World Health Organization*) sudah memperkirakan bahwa sekitar 80% penduduk dunia sudah memanfaatkan tanaman obat (*herbal medicine, phytotherapy, phytomedicine, atau botanical medicine*) untuk kesehatan (Mirza, 2010). Pada tahun 2003, WHO merekomendasikan pemanfaatan obat tradisional dan herbal untuk kesehatan, pencegahan dan pengobatan, terutama penyakit kronis, degeneratif dan kanker (Sari, 2016).

Dikutip dari laporan *World Health Organization* (WHO) penyakit degeneratif telah menambah peliknya kondisi kesehatan sebagian negara di dunia, yang selama ini didera permasalahan banyaknya kasus penyakit menular dan infeksi yang tergolong non degeneratif. Banyak negara mengalami kerugian hingga miliaran dolar akibat penyakit degeneratif. Oleh karena itu dibutuhkan langkah konkret untuk menanggulangnya. Hingga akhir tahun 2005 saja penyakit degeneratif telah menyebabkan kematian hampir 17 juta orang diseluruh dunia. Jumlah ini menempatkan penyakit degeneratif menjadi penyakit pembunuh manusia terbesar (Suiaroka, 2012). Di Indonesia transisi epidemiologi menyebabkan terjadinya

pergeseran pola penyakit, di mana penyakit kronis degeneratif sudah terjadi peningkatan. Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular yang berlangsung kronis seperti penyakit jantung, hipertensi, diabetes, kegemukan dan lainnya. Kontributor utama terjadinya penyakit kronis adalah pola hidup yang tidak sehat seperti kebiasaan merokok, minum alkohol, pola makan dan obesitas, aktivitas fisik yang kurang, stres, dan pencemaran lingkungan (Handajani dkk, 2010).

Penyebab penyakit degeneratif salah satunya disebabkan karena radikal bebas. Bertambahnya industri, merebaknya polusi, pencemaran lingkungan dan yang lainnya, tanpa disadari menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh kita secara terus menerus. Polusi lingkungan, ultraviolet, asap rokok, dan lain-lain merupakan kondisi yang meningkatkan paparan radikal bebas yang berpotensi meningkatkan resiko terjadinya penyakit-penyakit degeneratif (Suiaroka, 2012). Secara alami, tubuh manusia memiliki sistem pertahanan yang mampu melawan radikal bebas. Rahmawati (2011) menyatakan sistem pertahanan tersebut dilakukan terutama oleh enzim superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase. Jika jumlah radikal bebas berlebih, maka sistem pertahanan tubuh tidak mampu mengatasinya sehingga terjadi proses oksidasi terhadap zat gizi yang mengakibatkan timbulnya berbagai penyakit. Maka dari itu tubuh memerlukan antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas yang sangat berbahaya.

Antioksidan berperan sebagai substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal

bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan *stress oksidatif* (Hasanah, 2015)

Salah satu bahan alam yang sudah dikenal terbukti khasiatnya sebagai antioksidan adalah daun salam. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai tanaman obat asli Indonesia, banyak digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kolesterol, kencing manis, hipertensi, gastritis, dan diare. Daun salam diketahui mengandung flavonoid, selenium, vitamin A, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan (Rahman, 2014).

Pengujian aktivitas antioksidan pada daun 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 (Lung, dkk., 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang akan dijawab pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% daun salam?
- 1.2.2 Berapa nilai IC50 pada ekstrak etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrihidrazil) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah penelitian di atas, maka tujuan yang dimaksud adalah:

1.3.1 Tujuan Umum

- 1.3.1.1 Untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrihidrazil).

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrihidrazil).
- 1.3.2.2 Mengidentifikasi nilai IC50 (*Inhibition Concentration*) pada ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*)
- 1.3.2.3 Membandingkan nilai IC50 (*Inhibition Concentration*) dan menghitung persamaan regresi antara ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan kuersetin

1.4 Manfaat Penelitian

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

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Menambah pengetahuan masyarakat mengenai manfaat daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai antioksidan.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Hasanah, 2015	1. Pelarut yang digunakan yaitu etanol. 2. Memakai sampel daun salam 3. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. 4. Metode uji antioksidan menggunakan difenilpikril hidrasil (DPPH)	2.1 Konsentrasi pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Sedangkan penelitian oleh Hasanah, 2015 menggunakan pelarut etanol 70% 2.2 Memakai sampel daun salam yang diambil dari daerah Banyuwangi Jawa Timur. Sedangkan penelitian oleh Hasanah, 2015 memakai sampel daun salam yang diambil dari daerah Boja Semarang Jawa Tengah.
Bahriul dkk, 2014	1. Pelarut yang digunakan yaitu etanol. 2. Memakai sampel daun salam. 3. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. 4. Metode uji antioksidan menggunakan difenilpikril hidrasil (DPPH)	1. Konsentrasi pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Sedangkan penelitian oleh Bahriul dkk, 2014 menggunakan pelarut etanol absolut. 2. Memakai sampel daun salam yang diambil dari daerah Banyuwangi Jawa Timur 3. Konsentrasi sampel uji yang digunakan 10 ppm,

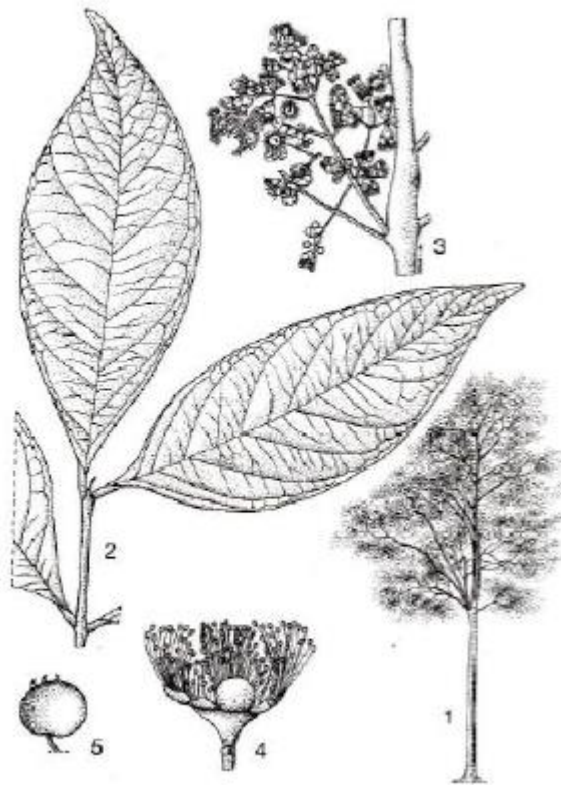
		50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Sedangkan konsentrasi yang digunakan oleh Bahriul dkk, 2014 yakni 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm
Islamiyati dkk, 2015	1. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% dan 96%. 2. Memakai sampel daun salam. 3. Metode uji antioksidan menggunakan difenilpikril hidrasil (DPPH)	1. Penelitian yang dilakukan oleh Islamiyati dkk, 2015 bertujuan membandingkan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol 70% dan 96%. Sedangkan penelitian yang saya lakukan tidak ada perbandingan aktivitas antioksidannya. 2. Memakai sampel daun salam yang diambil dari daerah Banyuwangi Jawa Timur.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

2.1.1 Morfologi Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

Myrtaceae memiliki sekitar 121 genus dan memiliki lebih dari 3800-5800 species (Silalahi, 2017), yang terdistribusi luas di Australia, South East Asia dan America. *Eugenia* dan *Syzygium* merupakan genus-genus yang sangat penting dalam perdagangan dan penghasil minyak atsiri yang masing-masing memiliki sekitar 1000 dan 1050 spesies secara berurutan (Silalahi, 2017) yang merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di hutan hujan tropis. *Syzygium*, merupakan genus yang sangat penting dari *Myrtaceae* dan banyak terdistribusi di daerah tropis dan subtropis khususnya di Asia Tenggara seperti Indonesia dan Malaysia. *Syzygium polyanthum* merupakan salah satu spesies dari genus *Syzygium* yang dapat tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 1800 m diatas permukaan laut dan tersebar mulai dari Birma sampai Pulau Jawa (Silalahi, 2017). *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. Memiliki sinonim *Eugenia polyantha* Wight, *Eugenia nitida*, *Eugenia balsamea* (Silalahi, 2017). Vernacular name untuk *Syzygium polyanthum* antara lain: salam (umum), Indonesia bay-leaf (Inggris), manting (Jawa), ubar serai (Sumatra), lomas (Batak Toba), lemas (Batak Phakpak) (Silalahi, 2017).



Gambar 2.1 *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. 1. Habitus pohon; 2. Ranting dengan daunnya; 3. Cabang dengan pembungaan (inflorescence); 4. Bunga; 5. Buah, (Sumber: Silalahi, 2014).



Gambar 2.2 Daun salam (Sumber: Harismah, 2017)

Syzygium polyanthum memiliki ciri-ciri antara lain: berhabitus pohon dengan tinggi mencapai 30 meter, dengan diameter batang dapat mencapai hingga 60 cm.

Memiliki daun tunggal dengan tata letak berhadapan (opposite), permukaan daun glabrous. Panjang tangkai daun hingga mencapai 12 mm, dengan helaian daun berbentuk *oblongelliptical* (memanjang) hingga lanset dengan ukuran 5-16 cm x 2,5-7 cm. Pembungaan berbentuk penicle dengan panjang 2-8 cm, biasanya muncul di sebelah bawah daun, namun kadang-kadang muncul diketiak daun (*axilaris*). Bunga sesil, biseksual, beraroma, dan bewarna putih. Kaliks berbentuk mangkuk (cup) dengan panjang 4 mm terdiri dari 4 lobus yang persisten, petal 4 yang bersifat bebas dengan panjang 2,5-3,5 cm bewarna putih. Stamen tersusun dalam 4 kelompok yang berukuran sekitar 3 mm yang bewarna orange-kuning. Buah merupakan buah berry yang memiliki 1 biji dengan diameter buah hingga 12 mm yang bewarna merah hingga ungu kehitaman ketika buah matang (Silalahi, 2017).

Perbanyakan *Syzygium polyanthum* dapat dilakukan dengan biji, cangkok atau stek. *Syzygium polyanthum* digunakan sebagai peneduh, sedangkan daunnya dapat digunakan sebagai penyedap masakan maupun obat-obatan. Secara empirik terlihat bahwa masyarakat lokal Indonesia menanam *Syzygium polianthum* dan melinjo (*Gnetum gnemon*) di pekarangan rumah sebagai pembatas pekarangan, sekaligus sebagai sayuran maupun penghasil kayu. *Syzygium polyanthum* mulai berbunga ketika berumur 3 tahun. Bunga berumur 3-7 hari kemudian terjadi penyerbukan dengan bantuan kupu-kupu maupun lebah (Silalahi, 2017).

2.1.2 Taksonomi Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

Berdasarkan “*Global Biodiversity Information Facility*” (GBIF, 2020), taksonomi dari tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
 Phylum : *Tracheophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Order : *Myrtales*
 Family : *Myrtaceae*
 Subfamily : *Myrtoideae*
 Genus : *Syzygium*

Species : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder. Tumbuhan memanfaatkan metabolit sekunder yang disintesisnya untuk pertahanan terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Jumlah dan jenis metabolit sekunder yang disintesis oleh tumbuhan bervariasi baik kadar maupun jenisnya. Manusia memanfaatkan metabolit sekunder untuk berbagai tujuan, namun paling banyak dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan.

Senyawa utama yang terkandung di dalam daun salam adalah flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki manfaat sebagai antivirus, antimikroba, antialergik, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan

sebagai sistem pertahanan tubuh (Novira, 2018). Flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu kuersetin dan fluoretin (Novira, 2018). Oleh karena memiliki kandungan senyawa kimia yang banyak, daun salam sering digunakan untuk mengobati penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi, dan kolesterol dengan menurunkan kadar kolesterol total dan masih banyak penyakit lainnya (Novira, 2018). Selain itu, daun salam juga mengandung beberapa vitamin, diantaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin B6, vitamin B12, thiamin, riboflavin, niacin, dan asam folat. Beberapa mineral yang terkandung di dalam daun salam yaitu zat besi, fosfor, kalsium, magnesium, selenium, seng, natrium dan kalium (Harismah, 2017).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dan dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi meliputi tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut (Hasanan, 2015). Ekstraksi pelarut dapat merupakan suatu langkah penting dalam urutan yang menuju kesesuatu produk murninya dalam laboratorium organik, anorganik, atau biokimia (Hasrianti, 2017). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu

metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Tetti, 2014). Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya:

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Tetti, 2014).

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berada dalam kondisi yang berbeda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolomik (Tetti, 2014).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut:

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
 2. Pemilihan pelarut
 3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.
 4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
 5. Pelarut nonpolar: n-heksan, petrole-um eter, kloroform, dan sebagainya.
- (Tetti, 2014).

2.2.1 Macam-Macam Metode Ekstraksi

Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain:

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstrak senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Hasrianti, 2017).

Prinsip dari ekstraksi maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam cairan penyari yang sesuai selama sehari atau beberapa pada temperatur kamar terlindungi dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berlangsung sampai terjadi keseimbangan

konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengaduk dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Keuntungan dari metode ini ialah peralatannya yang sederhana, sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengestrak sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks, dan lilin (Hasrianti, 2017).

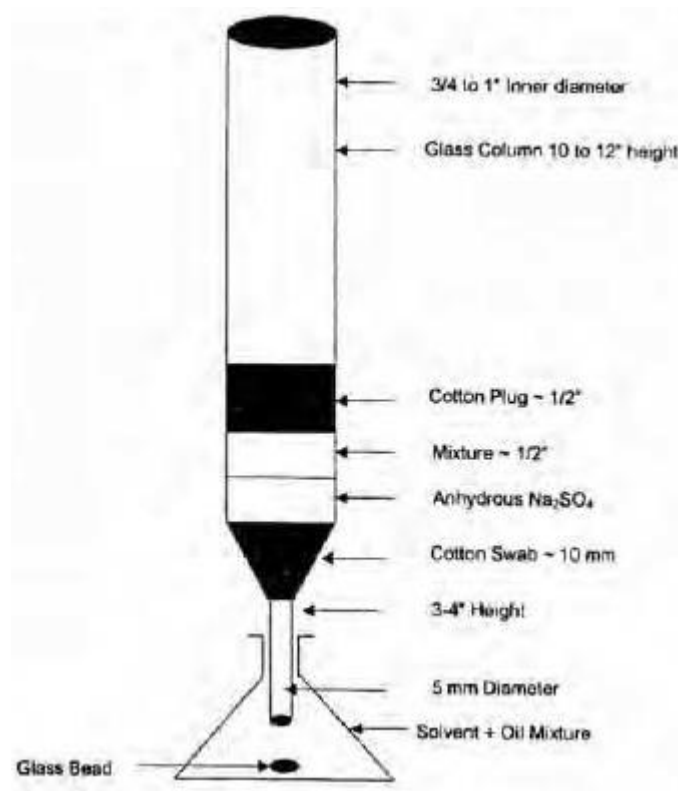


Gambar 2.3 Contoh ekstraksi dengan cara maserasi (Humadi, 2020)

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Hasrianti, 2017). Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder

yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak ho-mogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan me-makan banyak waktu (Tetti, 2014).

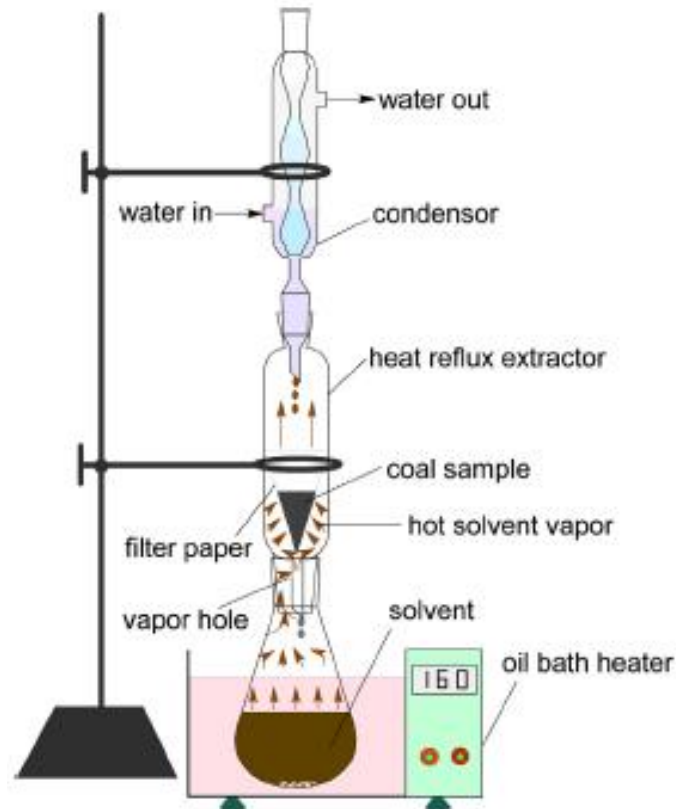


Gambar 2.4 Alat perkolasi (Kalia, 2002)

c. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Hasrianti, 2017). Pada metode refluks, sampel dimasukkan

bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Tetti, 2014).

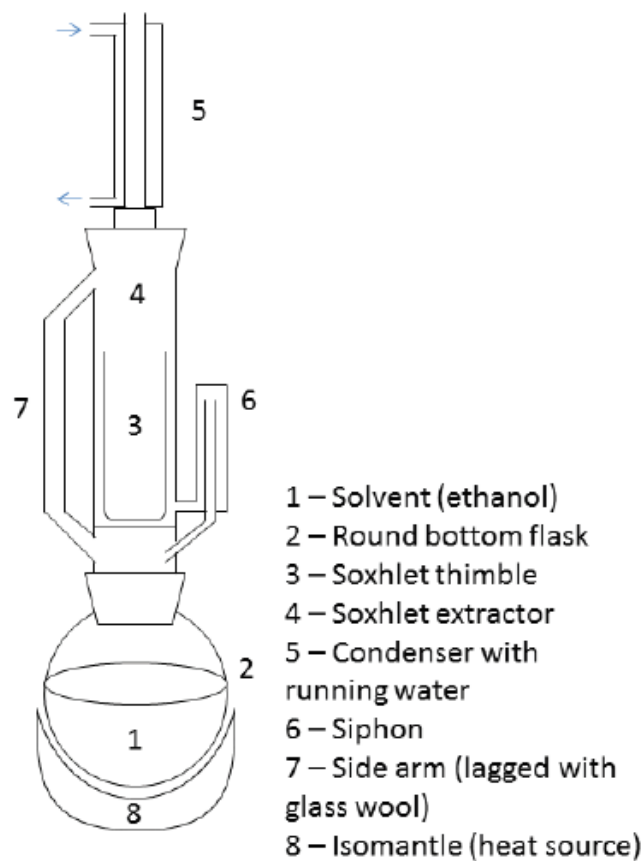


Gambar 2.5 Alat refluks (Tian dkk., 2016)

d. Soxhlet

Menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (Hasrianti, 2017). Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah

kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Ke-untungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang di-peroleh terus-menerus berada pada titik didih (Tetti, 2014).



Gambar 2.6 Alat soxhlet (Redfern dkk., 2014)

2.3 Radikal Bebas

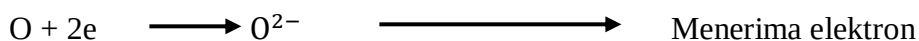
2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Pada proses oksidasi biologis yang terjadi pada sel (jaringan) tubuh manusia normal, dapat terentuk oksigen reaktif (oksidan). Oksidan, disebut juga radikal bebas, pada proses oksidasi (metabolisme sel) terutama dihasilkan dari proses yang dilakukan oleh enzim oksidase yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2), ion superoksida (O_2^-), radikal peroksil ($\text{OOH}^\cdot$), radikal peroksil ($\text{OH}^\cdot$), dan oksigen singlet (Yuslianti, 2018). Radikal bebas menurut Halliwell pada tahun 1999 adalah suatu atom, gugus, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar. Molekul tersebut diantaranya atom hidrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Kehadiran satu atau lebih elektron tak berpasangan menyebabkan molekul ini mudah tertarik pada suatu medan magnetik (paramagnetik) dan menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), bermuatan negatif (anion) atau tidak bermuatan. Proses pelepasan elektron dari suatu senyawa disebut oksidasi sedangkan proses penangkapan elektron disebut reduksi. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor (Yuslianti, 2018).

Contoh reaksi oksidasi:



Contoh reaksi reduksi:



Salah satu radikal bebas yang banyak dipelajari dan dikenal bersifat toksik bagi sel hidup adalah radikal bebas oksigen (superoksida) dan derivatnya (radikal hidroksil). Berikut ini adalah gambaran ringkas suatu radikal bebas dapat dibentuk menurut Yuslianti (2018):

1. Penambahan $:x^{\circ} + y \longrightarrow (x-y)^{\circ}$
2. Donasi elektron $:x^{\circ} + y \longrightarrow y^{\circ-} + x^{-}$
3. Penghilangan elektron $:x^{\circ} + y \longrightarrow y^{\circ+} + x^{-}$

Radikal bebas dapat terbentuk ketika suatu radikal bebas menyumbangkan satu elektronnya, mengambil satu elektron dari molekul lain, atau bergabung dengan molekul nonradikal lainnya. Akibatnya terjadi reaksi-reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru. Reaksi radikal bebas dengan molekul nonradikal bebas ini merupakan gambaran tentang bagaimana suatu reaksi berantai terjadi. Reaksi berantai ini akan terus berlanjut sampai radikal bebas itu dihilangkan oleh reaksi dengan radikal bebas lainnya atau sistem antioksidan tubuh. Jika dua buah radikal bebas bertemu maka masing-masing radikal akan menggabungkan elektron yang tidak berpasangannya dan bergabung membentuk ikatan kovalen (Yuslianti, 2018). Penghentian reaksi berantai ini, adalah sebagai berikut:

1. $x^{\circ} + x^{\circ} \longrightarrow x_2$
2. $x^{\circ} + x^{\circ} \longrightarrow xy$

Radikal bebas beraksi sangat reaktif karena dapat membentuk senyawa radikal baru. Senyawa radikal baru apabila beraksi dengan molekul akan terbentuk

senyawa radikal yang baru lagi, demikian seterusnya sehingga semua reaksi-reaksi tadi disebut dengan reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi berantai akan berlangsung terus menerus dan reaksi ini akan berhenti sampai ada peredaman oleh senyawa lain yang bersifat antioksidan. Radikal bebas dapat beraksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural (molekul-molekul penyusun membran sel) maupun komponen fungsional (enzim-enzim dan DNA). Radikal bebas dapat terbentuk dari senyawa yang bukan radikal bebas tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas seperti ozon, H_2O_2 , dan senyawa lainnya (Yuslianti, 2018).

2.3.2 Sifat Radikal Bebas

Reaksi radikal bebas yang terus menerus sebelum ada peredaman reaksi disebabkan oleh upaya molekul radikal bebas dalam mencari pasangan elektron. Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang sangat tinggi yaitu kecenderungan untuk menarik elektron dan kemampuannya mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas baru sehingga terjadi reaksi rantai, dan reaksi rantai ini baru berhenti jika radikal bebas diredam dengan antioksidan (Yuslianti, 2018).

Elektron berperan sebagai bahan yang menggabungkan atom-atom untuk membentuk molekul dalam suatu reaksi kimia. Atom terdiri dari nukleus, proton, dan elektron. Jumlah proton yang bermuatan positif dalam nukleus menentukan jumlah elektron yang bermuatan negatif dalam mengelilingi atom. Elektron yang mengelilingi atom dalam satu atau lebih lapisan, dimana bila satu lapisan penuh, maka elektron akan mengisi lapisan kedua, dan lapisan kedua penuh bila memiliki delapan

elektron, demikian seterusnya. Atom melengkapi lapisan luarnya dengan membagi elektron-elektron bersama atom lain dan atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul dengan membagi elektron (Yuslianti, 2018).

Jumlah elektron pada lapisan luar menentukan sifat kimia struktur sebuah atom, jika suatu zat elektron lapisan luarnya penuh, maka tidak akan terjadi reaksi kimia. Pada kondisi belum mencapai kestabilan maksimum, maka atom akan selalu mencoba melengkapi lapisan luarnya dengan membagi elektron-elektron bersama atom lain dan atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul dengan membagi elektron (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa dapat berdiri sendiri mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Kehadiran satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan molekul ini mudah tertarik pada suatu medan magnetik (paramagnetik) dan menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas akan menyerang molekul yang stabil terdekat dan mengambil elektron. Zat yang mengambil elektronnya akan menjadi radikal bebas baru sehingga akan terjadi reaksi berantai yang mengakibatkan kerusakan sel. Elektron radikal bebas yang tidak berpasangan tidak mempengaruhi muatan elektrik dari molekulnya, dapat bermuatan positif, negatif, atau netral (Yuslianti, 2018).

2.3.3 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas terdiri dari dua yaitu sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (radikal bebas endogenus) dan sumber radikal bebas yang berasal dari

luar tubuh (radikal bebas eksogenus) (Yuslianti, 2018). Penjelasan mengenai sumber radikal bebas endogenus ini sangat bervariasi. Sumber endogenus dapat melewati autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, atau melalui iskemik. Autoksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzylik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Contohnya lemak yang memproduksi asam butanoat, berbau tengik setelah bereaksi dengan udara (Yuslianti, 2018).

Oksidasi enzimatis menghasilkan oksidan asam hipoklorit. Sekitar 70-90% konsumsi O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan bersama dengan OH serta $HOCl$ membentuk H_2O_2 dengan bantuan bakteri. Oksigen dalam sistem transport elektron menerima 1 elektron membentuk superoksida. Ion logam transisi, yaitu Co dan Fe memfasilitasi produksi singlet oksigen dan pembentukan radikal bebas OH melalui reaksi Haber-Weiss: $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow OH + OH^- + Fe^3+$. Secara singkat xantin oksida selama iskemik menghasilkan superoksida dan xantin. Xantin yang mengalami produksi lebih lanjut menyebabkan asam urat (Yuslianti, 2018).

Fagositosis dalam respirasi, proses fagositosis mikroorganisme oleh sel leukosit menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar, hampir 70-90% penggunaan oksigen dapat memproduksi superoksida. Fagositosis sel tersebut memiliki sistem membran terikat flavoprotein sitokrom b-245 NADPH (*Nikotinamid*

Adenin Dinukleotida Fosfat) oksidase, aktivitas enzim NADPH oksidase ini pada membran sel yang menghasilkan superoksid (Yuslianti, 2018).

Kemudian untuk sumber radikal bebas eksogenus yakni radikal bebas yang berasal dari luar sistem tubuh, diantaranya sinar ultraviolet (UV), radiasi, asap rokok, senyawa kimia karbontetraklorida, senyawa hasil pemanggangan dan zat pewarna. Sinar Ultra violet B merangsang melanosit memproduksi melanin berlebihan dalam kulit, yang tidak hanya membuat kulit lebih gelap, melainkan juga berbintik hitam. Sinar UV A merusak kulit dengan menembus lapisan basal yang menimbulkan kerutan (Yuslianti, 2018). Radiasi elektromagnetik sinar X, sinar gamma, dan radiasi partikel elektron, proton, neutron, alfa, dan beta menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler, radikal primer dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan (Yuslianti, 2018). Asap rokok yang ditiup oleh perokok aktif yang bercampur udara dan gas nafas buangan akan memproduksi agen-agen radikal yang lebih berbahaya seperti nitrat oksida, radikal peroksil, dan radikal berbasis karbon (O_2CCl_3) yang membahayakan perokok pasif. Oksidan asap rokok dapat menghabiskan antioksidan intraseluler paru-paru melalui mekanisme yang dikaitkan dengan tekanan oksidan. Oksidan dalam rokok meliputi aldehida, epoksida, peroksida, dan radikal bebas lain dalam jumlah yang cukup menyebabkan kerusakan alveoli dan saluran nafas (Yuslianti, 2018). Senyawa karbontetraklorida (CCl_4) dalam pestisida merupakan senyawa yang dapat masuk ke

dalam tubuh dari lingkungan luar. Senyawa ini akan bereaksi dengan sitokrom P450 monooksidae dalam tubuh yang menghasilkan triklorometil (CCl_3) dan triklorometilperoksil (CCl_3O_2). Senyawa hasil pemanggangan makanan sampai gosong dapat menjadi pemicu radikal bebas dalam tubuh. Senyawa benzoapirine yang dihasilkan akan masuk ke dalam tubuh membentuk suatu molekul sangat radikal yaitu 7,8-diol-9-10-epoksida penyebab karsinogenesis. Pewarna makanan minuman serta zat aditif lainnya misalkan Red E120 dan asam karniat akan membentuk suatu senyawa radikal yang berperan dalam reaksi peroksidasi lipid yang akan menimbulkan kerusakan membran sel yang berakibat kematian sel dan jaringan (Yuslianti, 2018).

2.3.4 Mekanisme Radikal Bebas

Mekanisme pembentukan reaksi berantai radikal bebas terjadi melalui tiga tahapan reaksi yaitu, inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahapan inisiasi merupakan langkah pertama terciptanya spesies radikal. Secara umum, ini adalah peristiwa pembelahan homolitik yang jarang terjadi karena hambatan energi. Biasanya tahapan ini terbentuk karena pengaruh beberapa hal seperti, suhu tinggi, UV ataupun katalis mengandung logam digunakan sebagai penghalang energi. Pada tahapan propagasi, bagian 'rantai' dari reaksi berantai. Begitu radikal bebas reaktif dihasilkan, akan menjadi pemicu untuk bereaksi dengan molekul stabil dan membentuk radikal bebas baru. Demikian hal ini terus menerus berlangsung dengan melibatkan abstraksi hidrogen atau penambahan radikal menjadi ikatan rangkap dan menghasilkan banyak

radikal bebas. Sementara pada tahapan terminasi, reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal (Labola, 2018)

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan salah satu atom hidrogennya (Senet, 2017). Antioksidan juga termasuk suatu substansi yang pada konsentrasi rendah jika dibandingkan dengan substrat yang dapat teroksidasi, dapat menunda atau menghambat oksidasi substrat tersebut (Rosidah, 2018). Antioksidan dapat mencegah kerusakan seluler yang dapat timbul dari reaksi kimia akibat radikal bebas dimana diketahui radikal bebas berperan penting dalam patofisiologi penyakit umum seperti aterosklerosis, gagal ginjal kronik, dan diabetes melitus (Rosidah, 2018). Tubuh memiliki mekanisme untuk mencegah dan menetralkan radikal bebas yang dapat menginduksi kerusakan sel melalui antioksidan endogen seperti enzim *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione reductase* (GRD), *glutathione peroxidase* (GPX) dan *catalase* (CAT) (Rosidah, 2018). Ketersediaan antioksidan dalam tubuh harus terdapat dalam jumlah yang cukup untuk dapat menetralkan efek dari radikal bebas. Saat terjadi peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebihan, dibutuhkan antioksidan dari luar atau eksogen. Antioksidan eksogen dapat berasal dari makanan yang dikonsumsi (Rosidah, 2018).

Pada umumnya terdapat dua kelompok utama antioksidan eksogen yaitu antioksidan alami dan sintetis. Beberapa antioksidan sintetis diantaranya *tert-butyl*

hydroquinone (TBHQ), *butylated hydroxyl toluene* (BHT), *hidroksil anisol* (BHA), dan *propyl gallate* (PG). Pada beberapa negara, tingkat penggunaan antioksidan sintetis diatur berdasarkan keamanan senyawanya pada studi toksisitas jangka panjang. Maka saat ini dikembangkan antioksidan alami untuk meminimalkan penggunaan antioksidan sintetis (Rosidah, 2018). Antioksidan alami ditemukan pada sebagian besar tanaman, mikroorganisme, jamur dan jaringan binatang. Sebagian besar antioksidan alami adalah komponen fenolik dan kelompok fenolik yang paling penting dari antioksidan alami adalah flavonoid dan asam fenol (Salamah, 2015).

Mekanisme pertahanan terhadap oksidan terbagi dalam 3 jenis yaitu primer, sekunder, dan tersier. Mekanisme pertahanan primer bekerja melalui prinsip netralisir radikal bebas yaitu dengan memberikan satu elektron kepada molekul yang reaktif. Contoh antioksidan ini adalah tokoferol, asam askorbat, dan flavonoid (Wulansari, 2018). Mekanisme pertahanan sekunder bekerja dengan cara mengikat logam dan menyingkirkan logam transisi yang dapat memicu radikal bebas. Contoh antioksidan ini adalah albumin, dan transferin (Wulansari, 2018). Mekanisme pertahanan tersier bekerja dengan mencegah penumpukan biomolekul agar tidak menimbulkan kerusakan lebih lanjut. Contohnya seperti perbaikan DNA yang rusak oleh enzim metionin reduktase dan protein teroksidasi oleh enzim proteolitik (Wulansari, 2018).

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

2.5.1 Definisi Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar

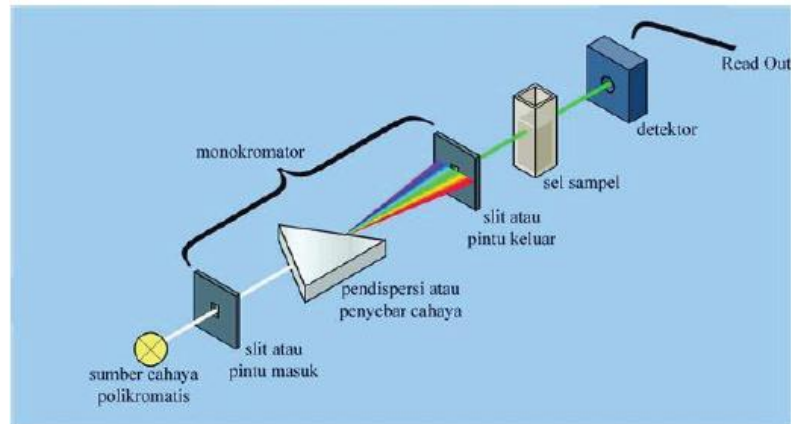
ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004). Ultraviolet jauh memiliki rentang panjang gelombang $\pm 10 - 200$ nm, sedangkan ultraviolet dekat memiliki rentang panjang gelombang $\pm 200-400$ nm. Cahaya UV tidak bisa dilihat oleh manusia, namun beberapa hewan, termasuk burung, reptil dan serangga seperti lebah dapat melihat sinar pada panjang gelombang UV (Suhartini, 2017).

Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas). Sinar ultralembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin

tinggi absorban. Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartini, 2017).

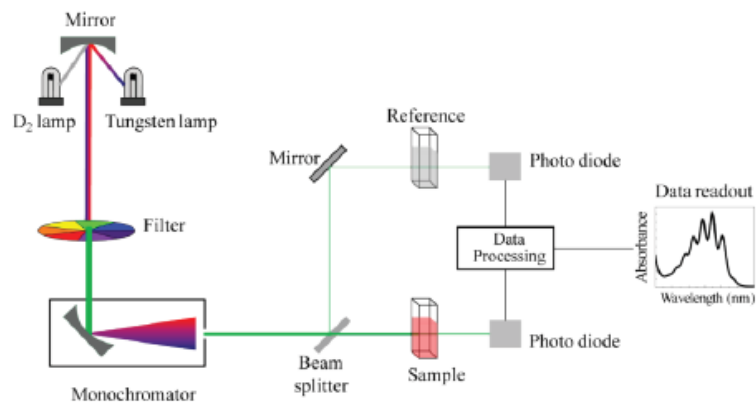
2.5.2 Instrumen

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*. *Single-beam instrument* dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm (Suhartini, 2017).



Gambar 2.7 Skema alat spektrofotometer UV-Vis *single-beam* (Suhartini, 2017).

Double-beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double-beam instrument* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinarkedua secara serentak melewati sampel (Suhartini, 2017).



Gambar 2.8 Skema alat spektrofotometer UV-Vis *double-beam* (Suhartini, 2017).

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi.

Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

2.5.3 Syarat Pengukuran

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

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

(Suhartini, 2017)

2.5.4 Prinsip Kerja

Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif, pada penentuan

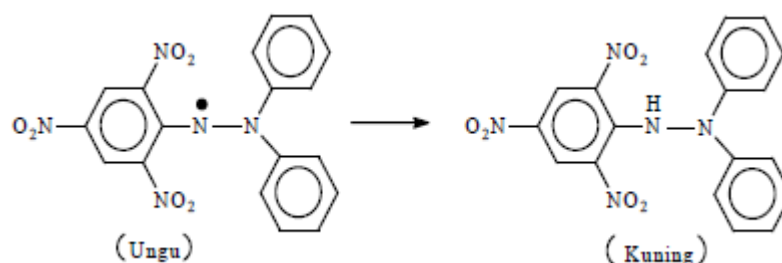
secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya. Adapun yang melandasi pengukuran spektrofotometer ini dalam penggunaannya adalah hukum Lambert-Beer yaitu bila suatu cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan (Fatimah, 2017).

2.6 Metode Uji Aktivitas Antioksidan

2.6.1 DPPH (*2,2 difenil-1-pikrihidrazil*)

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH (*2,2 difenil-1- pikrihidrazil*) merupakan metode uji aktivitas antioksidan menggunakan reagen DPPH yang berperan sebagai radikal. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikril hidrazin yang warnanya akan berangsurangsur memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Wulansari, 2018). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Mekanisme kerja dalam metode DPPH yaitu di mana

senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari warna ungu ke kuning yang kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm (Wijaya, 2014).



Gambar 2.9 Bentuk radikal DPPH menjadi nonradikal (Wijaya, 2014)

Struktur pada Gambar diatas adalah struktur di mana DPPH yang bersifat radikal kemudian berikatan dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan sehingga menjadi non radikal (Wijaya, 2014).

Pengujian menggunakan DPPH akan menghasilkan informasi mengenai aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dilihat berdasarkan nilai IC50 (*Inhibition Concentration*) dan data yang dihasilkan perlu dibandingkan dengan senyawa lain yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik seperti Kuersetin (Wulansari, 2018). IC50 (*Inhibition Concentration*) merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm). Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh. Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC50 berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC50 berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas

antioksidannya sedang, nilai IC₅₀ berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah, sedangkan apabila nilai IC₅₀ berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Rahman, 2014).

2.6.2 ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid*)

Selain menggunakan metode DPPH, pengujian antioksidan juga dapat dilakukan menggunakan metode ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid*) yang merupakan senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen. Prinsip pengujian adalah penyetabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan penghilangan warna ABTS yang semula berwarna biru hijau akan berubah menjadi tidak berwarna apabila tereduksi oleh radikal bebas. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 734. Hasil yang didapat dibandingkan dengan larutan standar Trolox yang merupakan antioksidan analog tokoferol (Wulansari, 2018).

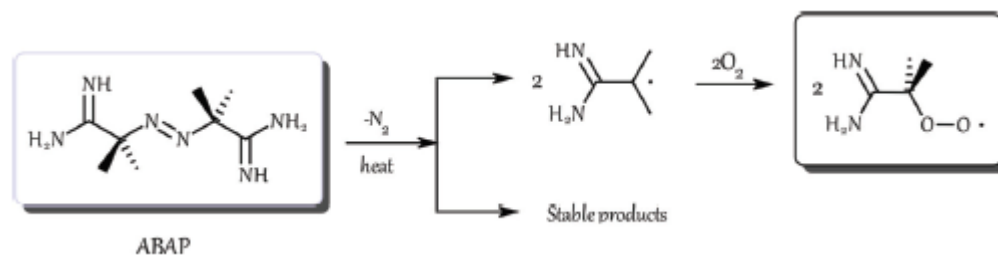
Metode ABTS jika dibandingkan dengan DPPH memiliki keunggulan yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksi yang lebih cepat. Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik namun pengujian menggunakan ABTS tidak menggambarkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembanding karena tidak mewakili sistem biologis tubuh (Cahyani, 2020). Oleh sebab itu, lebih banyak peneliti yang menggunakan DPPH sebagai metode utama

dalam menganalisis aktivitas antioksidan karena menggambarkan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas (Wulansari, 2018).

2.6.3 TRAP (*Total radical-trapping antioxidant parameter*)

TRAP digunakan untuk menentukan status antioksidan sekunder dalam plasma. Hasilnya (nilai TRAP) dinyatakan sebagai $\mu\text{mol ROO}$ yang terperangkap per liter plasma. Tes ini didasarkan pada pengukuran serapan O^2 selama reaksi peroksidasi terkontrol, yang dipromosikan oleh dekomposisi termal 2,2'-azobis- (2-middleopropane) (ABAP), yang menghasilkan ROO dengan kecepatan konstan. Ini dimulai dengan penambahan ABAP ke plasma manusia; Parameter yang akan dievaluasi adalah “waktu tunda” penyerapan O^2 dalam plasma yang diinduksi oleh senyawa antioksidan yang ada dalam medium. Waktu tunda diukur dari data konsentrasi O^2 dalam plasma yang diencerkan dalam larutan buffer yang dipantau dengan elektroda. Selain ABAP, inisiator radikal gratis lainnya telah digunakan, seperti ABTS, diklorofluorescein diasetat, phycoerythrin, dan luminol (Sanchez, 2019).

Salah satu kelemahan utama dari metode TRAP adalah kemungkinan kesalahan dalam deteksi titik akhir yang disebabkan oleh ketidakstabilan elektroda O^2 , karena titik ini membutuhkan waktu 2 jam untuk mencapainya. Untuk meminimalkan masalah ini, deteksi elektrokimia O^2 dapat dilakukan dengan deteksi chemiluminescent berdasarkan penggunaan luminol dan peroksidase lobak (Sanchez, 2019).

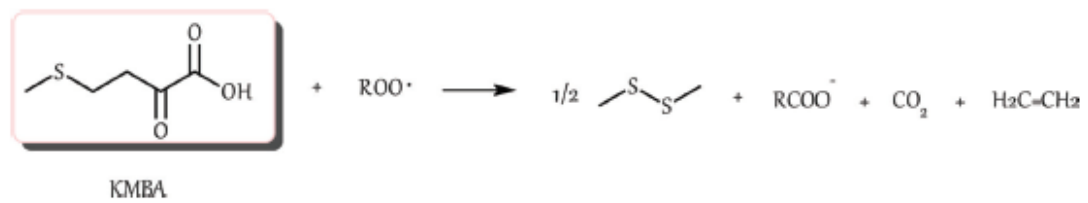


Gambar 2.10 Pembentukan radikal peroksil dari ABAP (Sanchez, 2019).

2.6.4 TOSCA (*Total oxyradical scavenging capacity assay*)

Metode ini didasarkan pada evaluasi aktivitas antioksidan dalam fasa gas, yang terdiri dari paparan asam α -keto- γ -methylthiobutyric (KMBA) ke oksidator kuat, seperti OH, ROO, dan ONOO⁻. Pengoksidasi ini agen menginduksi transformasi KMBA menjadi etilen. Untuk mengevaluasi efek antioksidan, pembentukan etilen dievaluasi dan dibandingkan dengan reaksi kontrol oleh penggunaan kromatografi gas ruang kepala (HS-GC). Pengujian TOSCA didasarkan pada penghambatan pembentukan etilen dengan adanya senyawa antioksidan itu bersaing dengan KMBA untuk ROS (Sanchez, 2019).

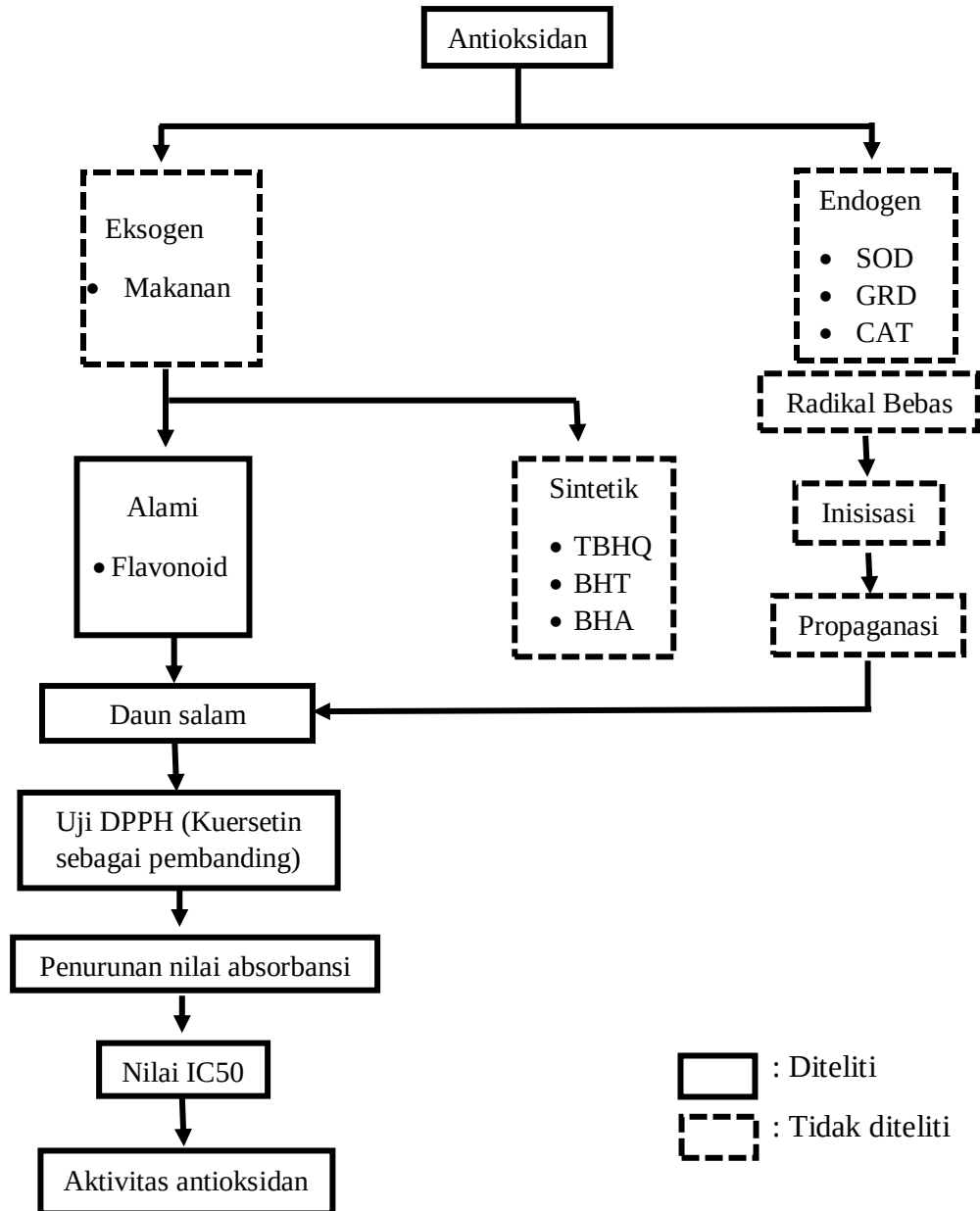
Metode TOSCA tidak cocok untuk analisis kinerja tinggi karena beberapa suntikan dari setiap sampel diperlukan untuk mengukur produksi etilen. Kinetika reaksi metode ini tidak memungkinkan adanya hubungan linier antara persentase penghambatan oksidasi KMBA dan konsentrasi antioksidan, yang merupakan batasan serius (Sanchez, 2019).



Gambar 2.11 Reaksi antara ROO dan KMBA (Sanchez, 2019).

BAB 3. KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis

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

H₀: Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1- pikrihidrazil).

H_a: Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1- pikrihidrazil).

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1- pikrihidrazil).

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang telah dibuat berbagai macam konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm.

4.2.1 Sampel

Sampel pada penelitian ini menggunakan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang di dapat dari Banyuwangi, Jawa Timur.

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bologi Farmasi dan Laboratorium Analisis Universitas dr. Soebandi.

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli - Agustus 2021.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*).

c. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, pengambilan sampel daun salam dan metode ekstraksi serbuk simplisia.

4.5.2 Defini Operasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variable YANG DIUKUR	Definisi UKURAN	Cara Ukur/TOLOK UKUR	Alat Ukur	Skala UKUR	HASIL UKUR
Konsentrasi sampel Ekstrak etanol daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) : 1. 50 ppm 2. 100 ppm 3. 150 ppm 4. 200 ppm 5. 250 ppm	Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi kemudian dilakukan pengenceran menggunakan etanol p.a.	Ekstrak etanol 96% daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) yang diencerkan menggunakan etanol p.a. sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm.	Maserator	Rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel yakni: 1. 50 ppm sebanyak 0,5 ml 2. 100 ppm sebanyak 1 ml 3. 150 ppm sebanyak 1,5 ml 4. 200 ppm sebanyak 2 ml 5. 250 ppm sebanyak 2 ml
IC50 (<i>Inhibition Concentration</i>)	IC50 merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) ditandai	IC50 dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel.	Spektro UV-Vis	Ordinal	- Sangat kuat, jika hasil yang di dapat <50 µg/mL - Kuat, Jika yang di dapat 50-100 µg/mL - Sedang, jika yang di dapat 101-150 µg/mL - Lemah, jika yang didapat >150µg/mL

	dengan semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan.				
--	---	--	--	--	--

4.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan

4.6.1 Alat dan bahan

a. Alat

Peralatan yang digunakan yaitu blender merk Philips Tango 2115P, alat rotary *vacuum* evaporator merk Hahn Vapor, Spektrofotometri UV-Vis Shimadzu UV-1900i dengan serial nomor A125357, ultrasonik merk Aczet, dan *glassware* merk Iwaki umum di laboratorium.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain yaitu daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diambil dari daerah Banyuwangi Jawa Timur, etanol 96%, etanol PA merk Smartlab, DPPH merk Smartlab dan Kuersetin merk Sigma Aldrich.

4.6.2 Determinasi Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Sebelum melakukan penelitian pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) terlebih dahulu dilakukan determinasi di laboratorium Universitas Ahmad Dahlan.

Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari (*Syzygium polyanthum*).

4.6.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) dipetik secara acak dari daerah Banyuwangi, daun salam yang telah dipetik, dicuci, dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup untuk dipakai pada perlakuan selanjutnya.

4.6.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Ekstrak daun salam dibuat dengan mengekstraksi 60 gram serbuk daun salam secara maserasi dengan pelarut etanol hingga terekstraksi sempurna. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 600 mL selama 2 x 24 jam sambil sesekali diaduk.. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* (Rahman, 2014).

4.6.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara menimbang 5 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 100 ml dengan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk DPPH 50 ppm (Kusuma, 2020).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar panjang gelombang yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Untuk alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS. 1 ml etanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 1 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Kusuma, 2020).

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak daun daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol PA sambil diaduk dan di homogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarutan ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat larut seluruhnya. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol PA hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak. (Handayani, 2018).

a) Larutan Uji Ekstrak 50 ppm

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

Jadi yang dipipet dari larutan induk dan dimasukan kedalam larutan sampel 50 ppm yaitu sebanyak 0,5 ml.

b) Larutan Uji Ekstrak 100 ppm

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

Jadi yang dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel 100 ppm yaitu sebanyak 1 ml.

c) Larutan Uji Ekstrak 150 ppm

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

Jadi yang dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel 150 ppm yaitu sebanyak 1,5 ml.

d) Larutan Uji Ekstrak 200 ppm

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

Jadi yang dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel 200 ppm yaitu sebanyak 2 ml.

e) Larutan Uji Ekstrak 250 ppm

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

Jadi yang dipipet dari larutan induk dan dimasukkan kedalam larutan sampel 250 ppm yaitu sebanyak 2,5 ml.

d. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin, dibuat dengan ditimbang sebanyak 2 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol PA 5 ml dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga didapat

konsentrasi larutan kuersetin 200 ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol PA sampai tanda batas (Nathania, 2020).

e. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum 517 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit (Rizkayanti, 2017).

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara masing-masing larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL, dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan Larutan Kuersetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm), kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi mL, kemudian ditambahkan 3,5 mL larutan DPPH. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 20 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Semua

pengerjaan dilakukan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari (Rizkayanti dkk, 2017).

g. Perhitungan Nilai IC50

Menurut Rahmayani (2013), nilai IC50 dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel dengan menggunakan persamaan:

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

A Blanko

Keterangan:

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

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

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC50 (*Inhibition Concentration 50%*), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 didapatkan dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dimasukkan kedalam aplikasi *Microsoft Excel* 2016 dengan cara analisis probit.

4.7 Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* dengan cara analisis probit. Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategori (kualitatif) dan

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

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila daun salam yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. yang tergolong dalam family *Myrtaceae*. Hasil identifikasi daun salam dapat dilihat pada (Lampiran 1).

5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang telah dipetik, dicuci, dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup.

5.3 Ekstraksi

Ekstrak daun salam dibuat dengan mengekstraksi 60 gram serbuk daun salam secara maserasi dengan pelarut etanol hingga terekstraksi sempurna. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 600 mL selama 2 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 2 x 24 jam filtrat yang diperoleh disaring dan residunya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol daun salam yang diperoleh berupa ekstrak

kental sebanyak 5,99 gram dari 60 gram serbuk daun salam dan diperoleh % rendemen sebanyak 9,98 %. Perhitungan hasil % rendemen dapat dilihat pada (Lampiran 4).

5.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

5.4.1 Penentuan Absorbansi DPPH

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani, 2014). Berikut tabel hasil dari penentuan absorbansi DPPH ekstrak dan kuersetin menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 5.1 Hasil absorbansi DPPH

DPPH	Absorbansi
DPPH Ekstrak	0,773
DPPH Kuersetin	0,551

5.4.2 Pengukuran Absorbansi Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin

a. Pengukuran Absorbansi Ekstrak Daun Salam

Pengukuran aktivitas antioksidan daun salam dilakukan dengan cara memipet 0, 5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 517 nm yang dimulai dari menit ke 0 hingga menit ke 60 dengan selang waktu 10 menit.

b. Pengukuran Absorbansi Kuersetin

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

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin

Ekstrak Daun Salam	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Kuersetin	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
	DPPH (0.773)				DPPH (0.551)		
	10	50	0.708		10	10	0.407
		100	0.646			20	0.358
		150	0.578			30	0.333
		200	0.394			40	0.297
		250	0.376			50	0.256
	20	50	0.707		20	10	0.406
		100	0.646			20	0.357
		150	0.576			30	0.331
		200	0.393			40	0.296
		250	0.375			50	0.253
	30	50	0.707		30	10	0.406
		100	0.621			20	0.357
		150	0.575			30	0.330
		200	0.392			40	0.295
		250	0.373			50	0.252
	40	50	0.705		40	10	0.405
		100	0.620			20	0.356
		150	0.537			30	0.329
		200	0.392			40	0.294
		250	0.372			50	0.250
	50	50	0.704		50	10	0.405
100		0.619	20	0.355			
150		0.572	30	0.328			

		200	0.391			40	0.293
		250	0.372			50	0.249
	60	50	0.703		60	10	0.404
		100	0.618			20	0.354
		150	0.571			30	0.327
		200	0.391			40	0.292
		250	0.371			50	0.248

5.4.3 Nilai IC50 Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin

Nilai IC50 masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $Y = a + bX$. Untuk penentuan nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. IC50 (*Inhibition Concentration*) merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm). Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh. Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC50 berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC50 berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC50 berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah, sedangkan apabila nilai IC50 berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Rahman, 2014).

Nilai IC 50 ekstrak daun salam akan dibandingkan dengan nilai IC 50 kuersetin atau pembanding. Untuk hasil IC 50 yang diperoleh nanti, dihasilkan pada menit 60 atau menit yang paling optimal. Kemudian nanti dihitung grafik hubungan

menit dan IC 50 dari ekstrak daun salam dan kuersetin. Apabila nanti grafiknya naik berarti aktivitas antioksidannya tidak optimal sedangkan apabila grafiknya turun berarti aktivitas antioksidannya bekerja optimal. Untuk pembuatan grafik dibantu dengan aplikasi yang hanya memasukkan datanya, setelah itu di proses oleh aplikasi kemudian grafik muncul.

Tabel 5.3 Hasil % inhibisi dan IC50 dari Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin

Ekstra k Daun Salam	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50 (ppm)	Kuersetin	Menit	Konsentrasi	Inhibisi (%)	IC50 (ppm)
	10	50	8,40	234,04		10	10	26,13	45,129
		100	16,42				20	35,02	
		150	25,22				30	39,56	
		200	49,02				40	46,09	
		250	51,35				50	53,53	
	20	50	8,53	233,65		20	10	26,31	44,484
		100	16,42				20	35,20	
		150	25,48				30	39,92	
		200	49,15				40	46,27	
		250	51,48				50	54,08	
	30	50	8,53	232,10		30	10	26,31	44,235
		100	19,66				20	35,20	
		150	25,61				30	40,10	
		200	49,28				40	46,46	
		250	51,74				50	54,26	
	40	50	8,79	232,30		40	10	26,49	43,906
		100	19,79				20	35,39	
		150	25,87				30	40,29	
		200	49,28				40	46,64	
		250	51,87				50	54,62	
	50	50	8,92	232,14		50	10	26,49	43,556
		100	19,92				20	35,57	
		150	26,00				30	40,47	
		200	49,41				40	46,82	
		250	51,87				50	54,80	
	60	50	9,05	231,52		60	10	26,62	43,291
		100	20,05				20	35,75	
150		26,13	30		40,46				

		200	49,41				40	47,00	
		250	52,00				50	54,99	

Tabel 5.4 Nilai IC 50 Ekstrak Daun Salam dan Kuersetin

Sampel	Nilai IC50	Aktivitas Antioksidan
Ekstrak daun salam	231,52 g/ml	Sangat lemah , IC50= >200 g/ml
Kuersetin	43,291 g/ml	Sangat kuat , IC50= <50 g/ml

Untuk IC50 Ekstrak paling rendah di dapatkan nilai: 231,52 g/ml yang didapatkan dari persamaan $y = 0,2308x - 3,393$. Sedangkan untuk IC 50 Kuersetin paling rendah di dapatkan nilai: 43,291 g/ml yang didapatkan dari persamaan $y = 0,6799x + 20,605$.

Aktivitas antioksidan yang kuat ditandai dengan nilai IC 50 yang kecil, untuk itu semakin kecil nilai IC 50, semakin kuat juga aktivitas antioksidan nya, dan sebaliknya apabila nilai IC 50 semakin besar berarti menandakan aktivitas antioksidan nya lemah.

Pada warna juga bisa diketahui aktivitas antioksidan nya. Semakin kuning warna yang dihasilkan semakin poten aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Pada warna DPPH berwarna ungu apabila tercampur senyawa yang mengandung senyawa antioksidan lama kelamaan akan berwarna kuning. Pada penelitian ini, ketika larutan sampel dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna dari ungu ke kuning tidak terlalu signifikan,

ditandai dengan warna ungu pekat DPPH yang sedikit memudar menjadi ungu encer. Sedangkan larutan sampel dengan konsentrasi 200 ppm dan 250 ppm direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna sangat signifikan, ditandai dengan warna ungu pekat DPPH kemudian berubah menjadi warna kuning encer. Untuk larutan kuersetin dengan masing-masing konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm, yang direaksikan dengan larutan DPPH, perubahan warna sangat signifikan yang ditandai dari warna ungu pekat DPPH menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena kuersetin berupa isolat yang hanya terdiri satu golongan senyawa saja dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Locatelli dkk., 2009).

BAB 6. PEMBAHASAN PENELITIAN

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

Tahapan pertama yaitu pembuatan simplisia. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dipetik dari daerah Banyuwangi, daun salam yang didapatkan secara acak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang telah dipetik, dicuci, dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup untuk dipakai pada perlakuan selanjutnya.

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

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

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

Ekstrak daun salam dibuat dengan mengekstraksi 60 gram serbuk daun salam secara maserasi dengan pelarut etanol hingga terekstraksi sempurna. Simplisia direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 600 mL selama 2 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* di laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) Universitas Jember hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol daun salam yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 5,99 gram dari 60 gram serbuk daun salam dan diperoleh % rendemen sebanyak 9,98 %. Rendemen merupakan nilai berat ekstrak kental yang diperoleh dibandingkan dengan berat simplisia atau serbuk awal (Fatoni, 2019).

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

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani, 2014). Hasil dari pengukuran absorbansi adalah 0,773 untuk DPPH (Ekstrak) dan 0,551 untuk DPPH (Kuersetin). Hasil absorbansi DPPH berbeda karena setiap sampel dan pembanding menggunakan larutan DPPH baru, kemudian

juga bisa karena faktor cahaya, karena DPPH tidak stabil dalam cahaya namun stabil untuk suhu ruang. Untuk itu cara mengatasinya yaitu dengan cara diletakkan di tempat yang kurang cahaya atau gelap.

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 3,5 mL DPPH dengan 0,5 mL larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm (Lampiran 6), kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui nilai absorbansinya. Data absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung nilai % inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Data inhibisi dengan konsentrasi sampel kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC₅₀) dilakukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ pada persamaan regresi linier.

Pada penelitian uji aktivitas daun salam didapatkan hasil perhitungan IC₅₀ yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 9,05%, untuk 100 ppm sebesar 20,05%, untuk 150 ppm sebesar 26,13 %, untuk 200 ppm sebesar 49,41% dan 250 ppm sebesar 52%. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC₅₀, dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan: $y = bx + a$. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0,2308x - 3,393$, Untuk penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu

Nilai IC₅₀: 231,52 g/ml yang termasuk golongan antioksidan sangat lemah. Rentang IC₅₀ = > 200 g/ml merupakan aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Aktivitas antioksidan yang sangat lemah pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) kemungkinan disebabkan karena beberapa faktor diantaranya: suhu yang terlalu panas pada saat proses pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*, yakni pada suhu 55°C, sehingga membuat kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak daun salam yang mana berpotensi sebagai antioksidan menjadi berkurang, selanjutnya kemungkinan disebabkan karena pada saat pengeringan simplisia, dijemur dibawah sinar matahari langsung, tidak dengan cara diangin-anginkan. Berdasarkan hal tersebut, membuat hasil perhitungan IC₅₀ menunjukkan nilai 231,52 g/ml yang termasuk golongan antioksidan yang sangat lemah.

Pada penelitian ini digunakan Kuersetin sebagai pembanding untuk mengetahui bahwa metode yang digunakan telah benar. Kuersetin merupakan salah-satu golongan senyawa flavonoid yang sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Locatelli dkk., 2009). Pada penelitian uji aktivitas Kuersetin didapatkan hasil perhitungan IC₅₀ yang didapat dari absorbansi pada menit 60 yaitu menit yang paling optimal. Pada 10 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 26,62%, untuk 20 ppm sebesar 35,75%, untuk 30 ppm sebesar 40,65%, untuk 40 ppm sebesar 47% dan 50 ppm sebesar 54,99 %. Data % inhibisi dari menit 60 dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC₅₀, dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan:

$y = bx + a$. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 0,6799x + 20,605$. Untuk penentuan nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC50 = (50 - a)/b$. Hasil perhitungan yaitu nilai $IC50 = 43,291$ g/ml yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat. Rentang $IC50 < 50$ g/ml merupakan aktivitas antioksidan sangat kuat.

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

.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- 7.1.1 Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% daun salam (*Syzygium polyanthum*) sangat lemah.
- 7.1.2 Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai yang diperoleh sebesar 231,52 g/ml.
- 7.1.3 Hasil perbandingan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan kuersetin dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dibandingkan kuersetin.

7.2 Saran

- 7.2.1 Sebaiknya dalam melakukan pengentalan ekstrak, perlu memperhatikan suhu yang dipakai pada saat menggunakan *rotary evaporator*, jangan sampai terlalu panas agar kandungan senyawa pada ekstrak tidak hilang.
- 7.2.2 Sebaiknya dalam proses pengeringan simplisia, perlu memperhatikan lokasi, jangan dijemur dibawah sinar matahari langsung, cukup diangin-anginkan saja.
- 7.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyani, D. R., Tamrin, T., & Faradilla, R. F. (2020). Evaluasi Metode In Vitro Pada Analisis Aktivitas Antioksidan Beberapa Buah Tropis: Studi Kepustakaan. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 5(6).
- Fatimah, S. (2017). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Pin Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9(17).
- Fatoni, G. (2019). *Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode Dpph Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Kabupaten Lumajang*. Tugas Akhir. Progam Studi Farmasi Universitas Jember.
- Global Biodiversity Information Facility (GBIF). (2020), <https://www.gbif.org/> (diakses 8 Desember 2020, 20:30 WIB).
- Handajani, A., Roosihermatie, B., & Maryani, H. (2010). Faktor-faktor yang berhubungan dengan pola kematian pada penyakit degeneratif di Indonesia. *Buletin penelitian sistem kesehatan*, 13(1), 21301.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299-308.
- Handayani, V., Ahmad, A., Sudir, M. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (Etlingera Elatior (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH*. Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar. Pharm Sci Res ISSN: 2407-2354
- Harismah, K. (2017). Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan. *Warta Lpm*, 19(2), 110-118.

- Hasanan, N. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. *Pena Medika Jurnal Kesehatan*, 5(1).
- Hasanan, N. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. *Pena Medika Jurnal Kesehatan*, 5(1).
- Hasrianti, H., Nururrahmah, N., & Nurasia, N. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah Dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *Dinamika*, 7(1), 9-30.
- Humadi, S. S., & Obaid, A. K. (2020). Al Zaharawi University College Department Of Pharmacy Department Of Pharmacognosy Pharmacognosy Laboratory Manual First Semester.
- Kalia, V. C., & Lal, S. (2002). Modified cold percolation method for extracting oil from oil seeds.
- Kusuma, I. M., Veryanti, P. R., & Chairunnisa, B. (2020). Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Buah Kawista (*Limonia acidissima*) dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Sainstech Farma*, 13(2), 60-65.
- Labola, Y. A., & Puspita, D. (2018). Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Majalah Farmasetika*, 2(2), 12-17.
- Locatelli, M., R. Gindro, F. Travaglia, J. Coisson, M. Rinaldi, dan M. Arlorio. 2009. Study of the DPPH a -scavenging Activity : Development Of a Free Software For The Correct Interpretation Of Data. *Food Chemistry*. 114(3):889–897.
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62.

- Mirza, Z. 2010. Inventarisasi pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional oleh Suku Osing Banyuwangi. Skripsi. Jurusan Pendidikan MIPA. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Jember. Jember.
- Nathania, E. K., Maarisit, W., Potalangi, N. O., & Tapehe, Y. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia Suaveolens* Bercht. & J. Presl) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Biofarmasetikal Tropis*, 3(2), 40-47.
- Novira, P. P., & Febrina, E. (2018). Review Artikel: Tinjauan Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp). *Farmaka*, 16(2).
- Rahman, N., Bahriul, P., & Diah, A. W. M. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium Polyanthum*) dengan menggunakan 1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 143-149.
- Rahmawati, F. 2011. Kajian potensi 'wedang uwuh' sebagai minuman fungsional. Seminar Nasional 'Wonderfull Indonesia', Jurusan PTBB FT UNY, 3 Desember 2011.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., & Djunaedi, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar keong bakau (*Telescopium telescopium*) dengan pelarut yang berbeda terhadap metode DPPH (diphenyl picril hidrazil). *Journal of Marine Research*, 2(4), 36-45.
- Redfern, J., Kinninmonth, M., Burdass, D., & Verran, J. (2014). Using soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties. *Journal of microbiology & biology education*, 15(1), 45.
- 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.

- Rosidah, R. O. S. I. D. A. H., & Tjitraresmi, A. (2018). Potensi Tanaman Melastomataceae Sebagai Antioksidan. *Farmaka*, 16(1), 24-35.
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L.) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25-34.
- Sanchez, S., Coronado, S., Canongo, V., Carlos, H. (2019). *Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism*. IntechOpen, DOI:10.5772/intechopen.85270.
- Sari, R., & Suhartati, S. (2016). Secang (*Caesalpinia sappan* L.): Tumbuhan Herbal Kaya Antioksidan. *Buletin Eboni*, 13(1), 57-67.
- Senet, M. R. M., Parwata, I. M. O. A., & Sudiarta, I. W. (2017). *Kandungan Total Fenol Dan Flavonoid Dari Buah Kersen (Muntingia Calabura) Serta Aktivitas Antioksidannya*. *Jurnal Kimia*, 187.
- Silalahi, M. (2017). *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. *Jurnal Dinamika Pendidikan*, 10(1), 1-16.
- Suhartati, T. (2017). Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik.
- Suiraoka, I. P. (2012). Penyakit degeneratif. *Yogyakarta: Nuha Medika*, 45-51.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Tian, B., Qiao, Y. Y., Tian, Y. Y., Xie, K. C., & Li, D. W. (2016). Effect of heat reflux extraction on the structure and composition of a high-volatile bituminous coal. *Applied Thermal Engineering*, 109, 560-568.

- Wijaya, D. P., Paendong, J. E., & Abidjulu, J. (2014). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari daun nasi (*Phrynium capitatum*) dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal MIPA*, 3(1), 11-15.
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varigiaefolium*) Sebagai Antioksidan. *Farmaka*, 16(2).
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan



LABORATORIUM BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jl. Ringroad Selatan, Tamanan, Banguntapan, Bantul

SURAT KETERANGAN

Nomor : 059/Lab.Bio/B/II/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan menerangkan bahwa :

Nama : Ginanjar Basuki
NIM : 17040062
Prodi, PT : Farmasi, STIKES dr. Soebandi Jember

Telah melakukan determinasi tanaman dengan bimbingan Hery Setiyawan, M.Si di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 18 Februari 2021

Tanaman tersebut adalah :
Syzygium polyanthum (Wight) Walp.

Demikian Surat Keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 20 Februari 2021

Kepala Lab. Biologi



Dr. Hadi Sasongko, M.Si.

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



(proses pengolahan sampel)

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Wgt.Factor	Comments
1	dPPH	Standard		50.000	0.773	1.000	
2							

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.708	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.707	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.707	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.705	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.704	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.703	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.646	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.646	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.621	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.620	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.619	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.618	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.578	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.576	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.575	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.573	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.572	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.571	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.394	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.393	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.392	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.392	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.391	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.391	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.376	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.375	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.373	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.372	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.372	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.371	
7						

(Data yang dihasilkan Spektro uv-vis untuk Ekstrak)

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Wgt.Factor	Comments
1	DPPH	Standard		50.000	0.551	1.000	
2							

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.407	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.406	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.406	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.405	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.405	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.404	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.358	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.357	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.357	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.356	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.355	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.354	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.333	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.331	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.330	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.329	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.328	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.327	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.297	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.296	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.295	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.294	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.293	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.292	
7						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown		*****	0.256	
2	SAMPEL2	Unknown		*****	0.253	
3	SAMPEL3	Unknown		*****	0.252	
4	SAMPEL4	Unknown		*****	0.250	
5	SAMPEL5	Unknown		*****	0.249	
6	SAMPEL6	Unknown		*****	0.248	
7						

(Data yang dihasilkan Spektro UV VIS untuk Kuercetin)



(Instrumen yang digunakan)



(Beberapa tahapan proses uji aktivitas antioksidan)

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen Ekstrak

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

$$\text{Rendemen: } \frac{5,99}{60} \times 100\% = 9,98\%$$

Lampiran 4. Perhitungan DPPH

Penimbangan DPPH

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

Lampiran 5. Perhitungan Larutan Ekstrak dan Kuersetin Perhitungan sampel ekstrak daun salam

$$\begin{aligned} \text{Larutan Induk} &= 10 \text{ mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol pa } 10 \text{ ml:} \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

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

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

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

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

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

Perhitungan Kuersetin

$$\begin{aligned} \text{Larutan Induk} &= 2 \text{ mg ekstrak dilarutkan pada pada etanol pa } 10 \text{ ml:} \\ &= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml/L} \\ &= 200 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan di berbagai konsentrasi

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

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

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

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

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

Lampiran 6. Perhitungan %Inhibisi **Perhitungan % Inhibisi untuk Ekstrak**

Menit 10

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

$$100 = \frac{0,773 - 0,646}{0,773} \times 100\% = 16,42\%$$

$$150 = \frac{0,773 - 0,578}{0,773} \times 100\% = 25,22\%$$

$$200 = \frac{0,773 - 0,394}{0,773} \times 100\% = 49,02\%$$

$$250 = \frac{0,773 - 0,376}{0,773} \times 100\% = 51,35\%$$

Menit 20

$$50 = \frac{0,773-0,707}{0,773} \times 100\% = 8,53\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,646}{0,773} \times 100\% = 16,42\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,576}{0,773} \times 100\% = 25,48\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,393}{0,773} \times 100\% = 49,15\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,375}{0,773} \times 100\% = 51,48\%$$

Menit 30

$$50 = \frac{0,773-0,707}{0,773} \times 100\% = 8,53\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,621}{0,773} \times 100\% = 19,66\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,575}{0,773} \times 100\% = 25,61\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,392}{0,773} \times 100\% = 49,28\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,373}{0,773} \times 100\% = 51,74\%$$

Menit 40

$$50 = \frac{0,773-0,705}{0,773} \times 100\% = 8,79\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,620}{0,773} \times 100\% = 19,79\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,573}{0,773} \times 100\% = 25,87\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,392}{0,773} \times 100\% = 49,28\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,372}{0,773} \times 100\% = 51,87\%$$

Menit 50

$$50 = \frac{0,773-0,704}{0,773} \times 100\% = 8,92\%$$

$$100 = \frac{0,773-0,619}{0,773} \times 100\% = 19,92\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,572}{0,773} \times 100\% = 26\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,391}{0,773} \times 100\% = 49,41\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,372}{0,773} \times 100\% = 51,87\%$$

Menit 60

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

$$100 = \frac{0,773-0,618}{0,773} \times 100\% = 20,05\%$$

$$150 = \frac{0,773-0,571}{0,773} \times 100\% = 26,13\%$$

$$200 = \frac{0,773-0,391}{0,773} \times 100\% = 49,41\%$$

$$250 = \frac{0,773-0,371}{0,773} \times 100\% = 52\%$$

Perhitungan % Inhibisi untuk Kuersetin**Menit 10**

$$10 = \frac{0,551-0,407}{0,551} \times 100\% = 26,13\%$$

$$20 = \frac{0,551-0,358}{0,551} \times 100\% = 35,02\%$$

$$30 = \frac{0,551-0,333}{0,551} \times 100\% = 39,56\%$$

$$40 = \frac{0,551-0,297}{0,551} \times 100\% = 46,09\%$$

$$50 = \frac{0,551-0,256}{0,551} \times 100\% = 53,53\%$$

Menit 20

$$10 = \frac{0,551-0,406}{0,551} \times 100\% = 26,31\%$$

$$20 = \frac{0,551-0,357}{0,551} \times 100\% = 35,2\%$$

$$30 = \frac{0,551-0,331}{0,551} \times 100\% = 39,92\%$$

$$40 = \frac{0,551-0,296}{0,551} \times 100\% = 46,27\%$$

$$50 = \frac{0,551-0,253}{0,551} \times 100\% = 54,08\%$$

Menit 30

$$10 = \frac{0,551-0,406}{0,551} \times 100\% = 26,31\%$$

$$20 = \frac{0,551-0,357}{0,551} \times 100\% = 35,2\%$$

$$30 = \frac{0,551-0,330}{0,551} \times 100\% = 40,1\%$$

$$40 = \frac{0,551-0,295}{0,551} \times 100\% = 46,46\%$$

$$50 = \frac{0,551-0,252}{0,551} \times 100\% = 54,26\%$$

Menit 40

$$10 = \frac{0,551-0,405}{0,551} \times 100\% = 26,49\%$$

$$20 = \frac{0,551-0,356}{0,551} \times 100\% = 35,39\%$$

$$30 = \frac{0,551-0,329}{0,551} \times 100\% = 40,29\%$$

$$40 = \frac{0,551-0,294}{0,551} \times 100\% = 46,64\%$$

$$50 = \frac{0,551-0,250}{0,551} \times 100\% = 54,62\%$$

Menit 50

$$10 = \frac{0,551-0,405}{0,551} \times 100\% = 26,49\%$$

$$20 = \frac{0,551-0,355}{0,551} \times 100\% = 35,57\%$$

$$30 = \frac{0,551-0,328}{0,551} \times 100\% = 40,47\%$$

$$40 = \frac{0,551-0,293}{0,551} \times 100\% = 46,82\%$$

$$50 = \frac{0,551-0,249}{0,551} \times 100\% = 54,8\%$$

Menit 60

$$10 = \frac{0,551-0,404}{0,551} \times 100\% = 26,62\%$$

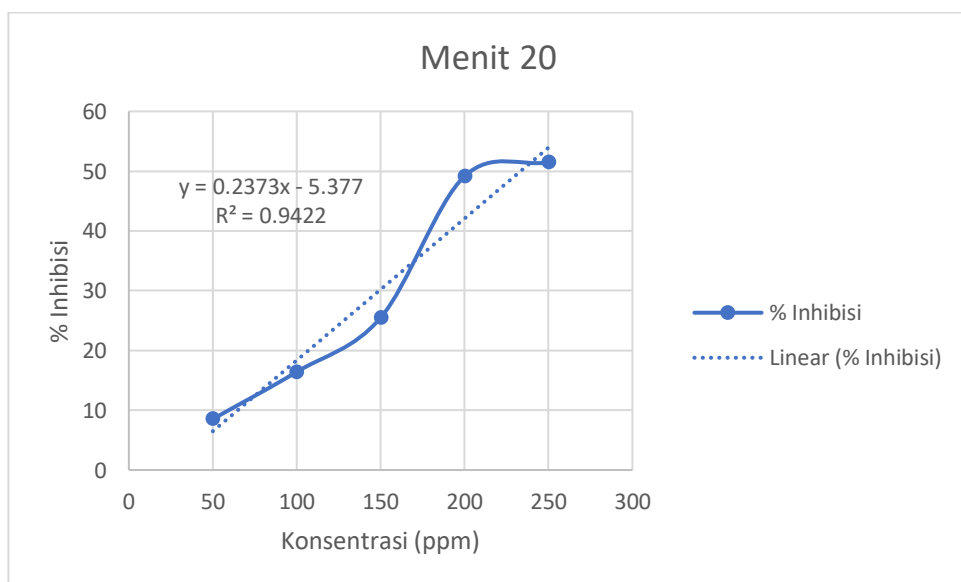
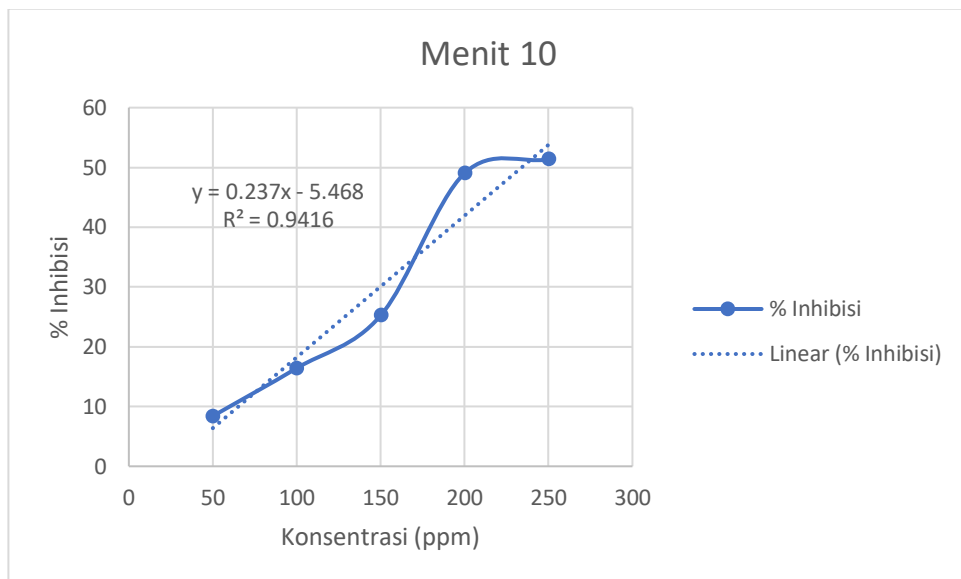
$$20 = \frac{0,551-0,354}{0,551} \times 100\% = 35,75\%$$

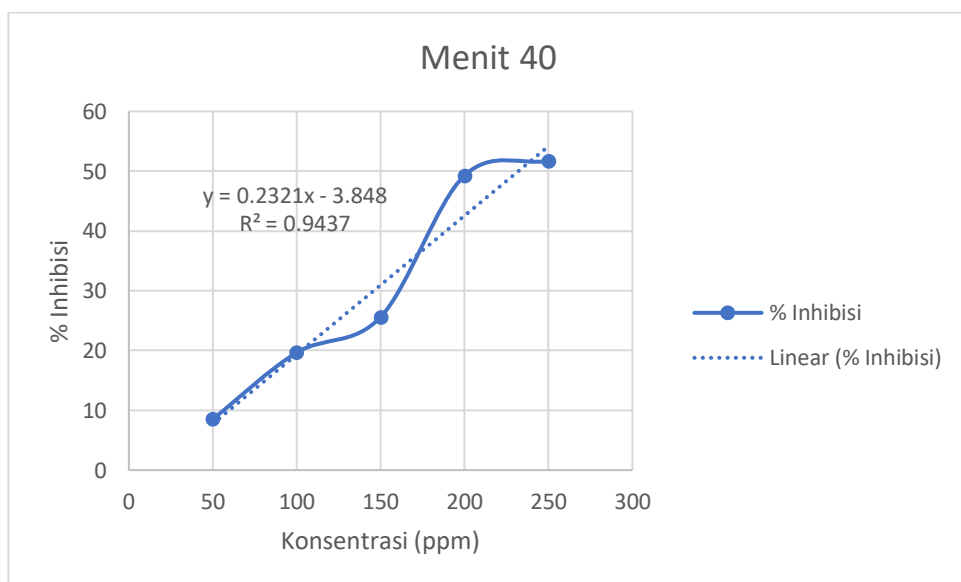
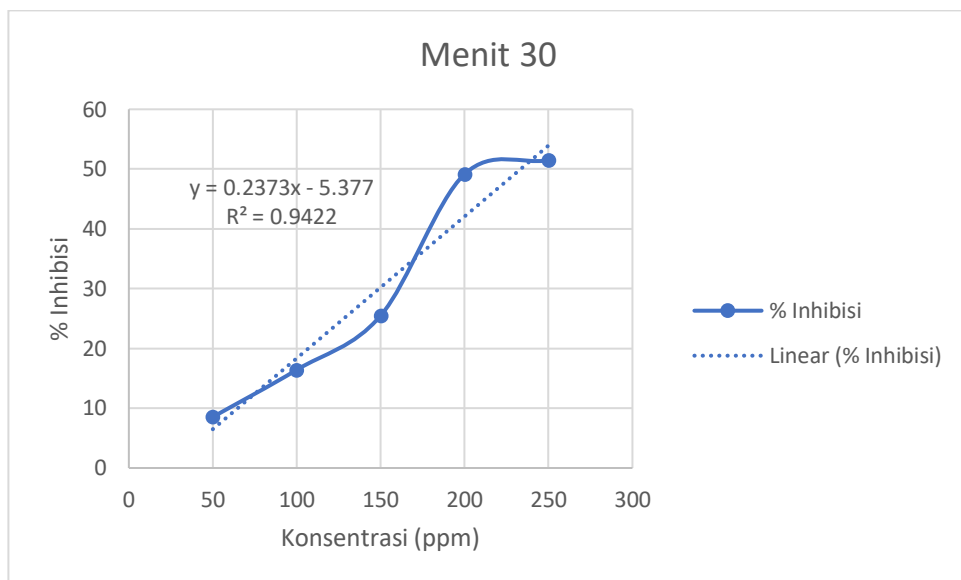
$$30 = \frac{0,551-0,327}{0,551} \times 100\% = 40,65\%$$

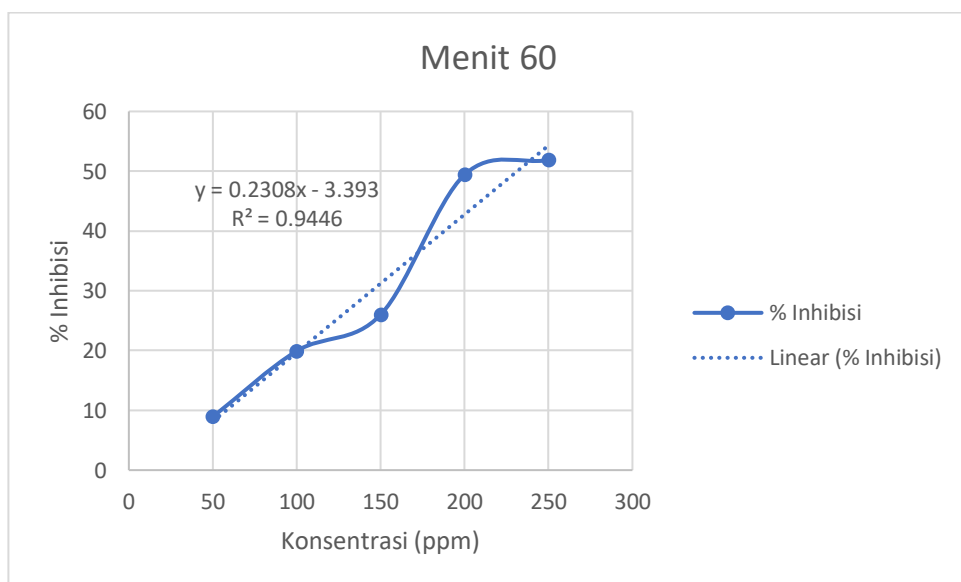
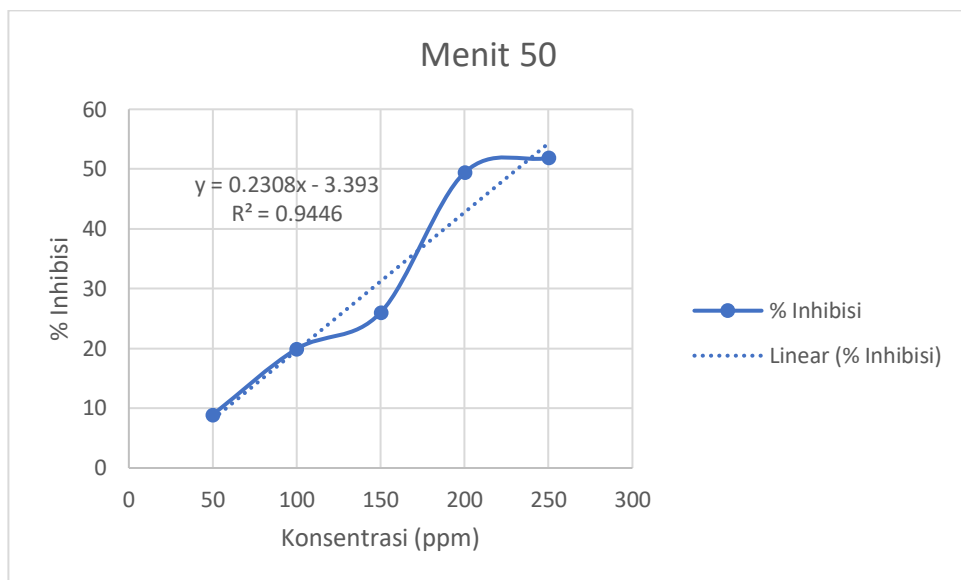
$$40 = \frac{0,551-0,292}{0,551} \times 100\% = 47\%$$

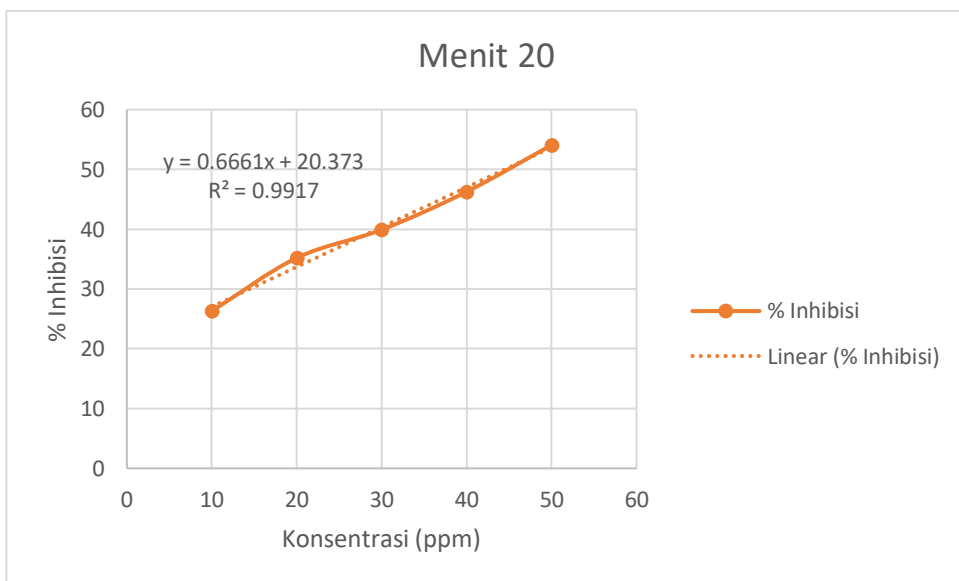
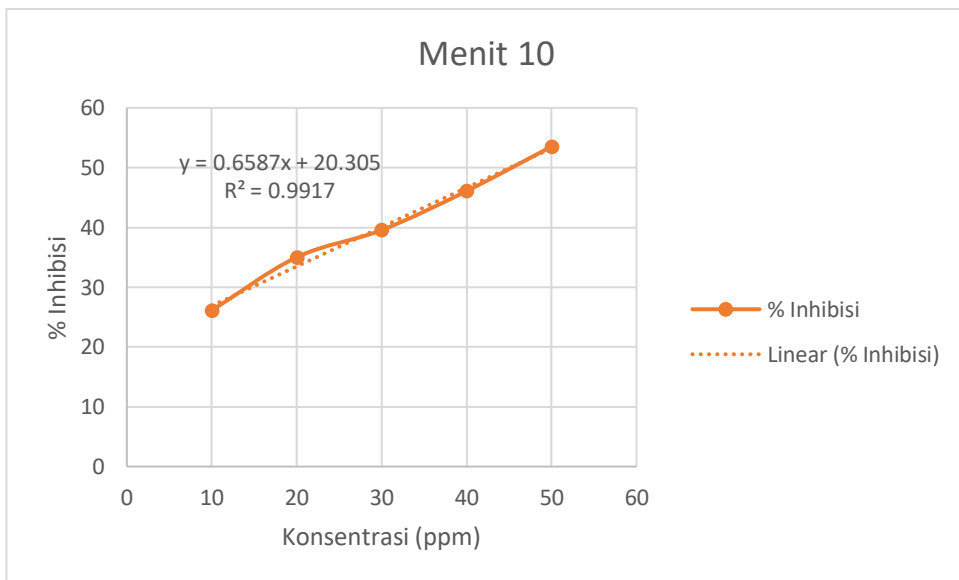
$$50 = \frac{0,551-0,248}{0,551} \times 100\% = 54,99\%$$

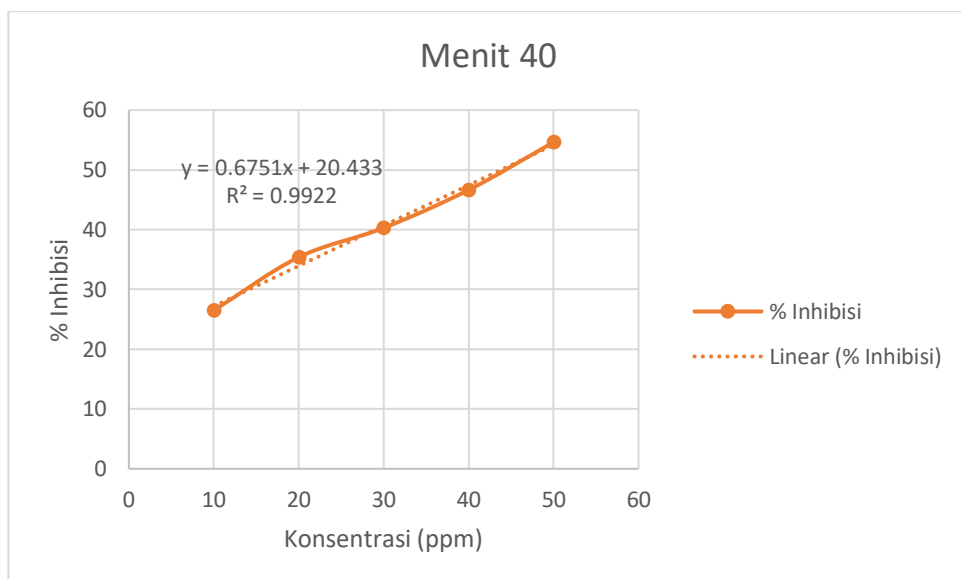
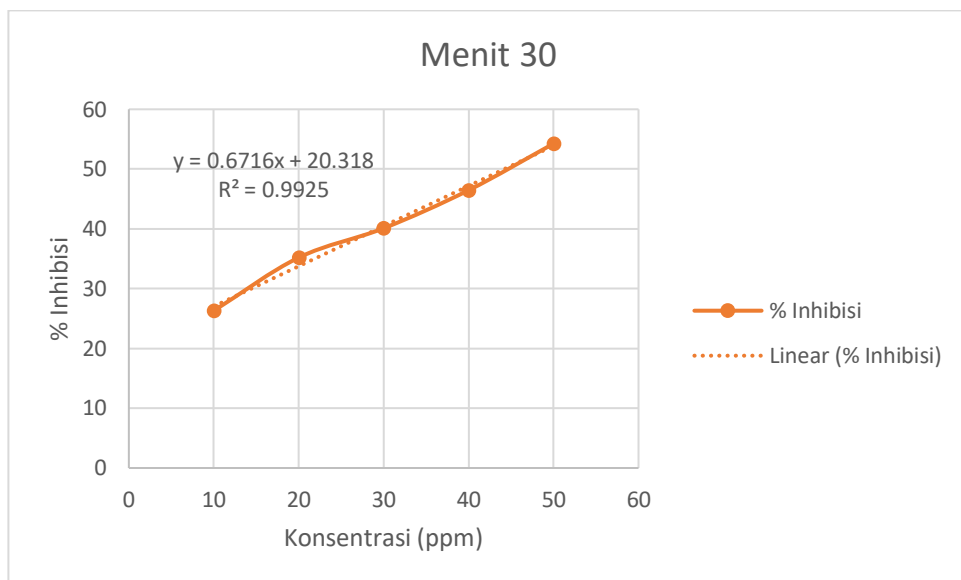
Lampiran 7. Grafik IC 50
(IC50 Ekstrak Daun Salam)



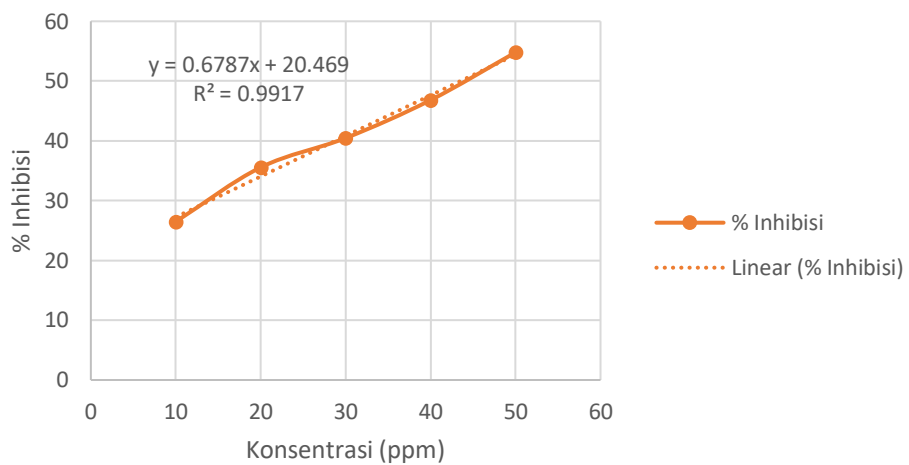




(IC50 Kuersetin)



Menit 50



Menit 60

