

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SECARA IN VITRO TERHADAP EKSTRAK ETANOL
DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*)**

SKRIPSI



Oleh :
Yendy Laily Pratiwi
NIM. 18040102

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

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SECARA IN VITRO TERHADAP EKSTRAK ETANOL
DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*)**

SKRIPSI

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



Oleh :
Yendy Laily Pratiwi
NIM. 18040102

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

LEMBAR PERSETUJUAN

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

Jember, 25 Agustus 2022

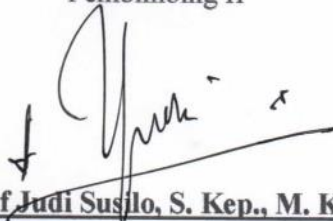
Pembimbing I



apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm

NIK. 198608092019012151

Pembimbing II



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

NIK. 196512171989031001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Terhadap Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

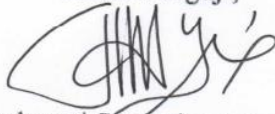
Hari : Jum'at

Tanggal : 02 September 2022

Tempat : Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm
NIDN. 0703068903

Penguji II,



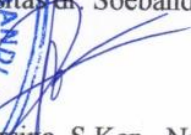
apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm
NIK. 198608092019012151

Penguji III,



Arief Budi Susilo, S. Kep., M. Kes
NIK. 196512171989031001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



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

KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yendy Laily Pratiwi

NIM : 18040102

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Terhadap Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) 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 sanksi akademik jika dikemudian hari ini tidak benar.

Jember, 02 September 2022

Yang menyatakan,



Yendy Laily Pratiwi
18040102

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
SECARA IN VITRO TERHADAP EKSTRAK ETANOL
DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*)**

SKRIPSI

**Oleh :
Yendy Laily Pratiwi
NIM. 18040102**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Arief Judi Susilo, S.Kep., M.Kep

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT yang telah memberi rahmat dan hidayah-Nya serta Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang;
2. Ayah, Ibu dan Adik serta semua keluarga atau saudara lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan doa, dorongan motivasi, dan semangat;
3. Kak Hani, Kak Sherly, Vera dan Kak Fani yang selalu setia memberikan bantuan serta dukungan dan meluangkan waktunya untuk penulis;
4. Almamater Universitas dr Soebandi Jember.

MOTTO

Jangan biarkan hatimu berlarut-larut dalam kesedihan atas masa lalu, atau itu akan membuatmu tidak akan pernah siap untuk menghadapi apa yang akan terjadi.

Ali bin Abi Thalib

Kamu tidak perlu menjadi luar biasa untuk memulai, tapi kamu harus memulai untuk menjadi luar biasa.

Zig zlglar

Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.

(Al-Baqarah:216)

“Lakoni lakonah, kennengngi kennengnganna”

(unknown)

ABSTRAK

Pratiwi, Yendy Laily* Hidayati, Sholihatil** Susilo, Arief Judi***. 2022.
Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Terhadap Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*).
Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi.

Latar Belakang: Mimba (*Azadirachta indica*) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam famili *Meliaceae*, ekstrak etanol daun mimba terbukti memiliki aktivitas biologi yang cukup luas antara lain antibakteri, antidiabetes dan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang berfungsi untuk menghambat pembentukan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia dan menganalisis peredaman radikal bebas terhadap ekstrak etanol daun mimba.

Metode: Desain penelitian ini adalah *true eksperimental* dengan menggunakan metode DPPH yang dapat menentukan kapasitas radikal bebas yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ dengan menggunakan larutan kuersetin sebagai kontrol positif. Konsentrasi ekstrak daun mimba yang digunakan adalah 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm dengan waktu inkubasi optimum selama 50 menit yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

Hasil Penelitian: Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) yang diambil dari Kabupaten Sumenep mengandung senyawa flavonoid, steroid, alkaloid dan saponin. Ekstrak daun mimba memiliki nilai IC₅₀ sebesar 94,73 µg/mL yang termasuk antioksidan kuat. Kuersetin sebagai kontrol positif mendapatkan nilai sebesar 4,78 µg/mL yang merupakan antioksidan sangat kuat.

Kesimpulan: Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang menyebabkan daun mimba termasuk antioksidan kuat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan eksogen.

Kata kunci: Antioksidan, Daun Mimba (*Azadirachta indica*), DPPH.

* Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Pratiwi, Yendy Laily* Hidayati, Sholihatil** Susilo, Arief Judi***. 2022. **Determination of Phytochemical and In Vitro Antioxidant Activity Test on Neem Leaves Ethanol Extract (*Azadirachta indica*)**. Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi.

Introduction: Neem (*Azadirachta indica*) is a plant belongs to the *Meliaceae* family, the ethanolic extract of neem leaves is proven to have wide range of biological activities including antibacterial, antidiabetic and antioxidant. Antioxidants are chemical compounds that function to inhibit the formation of free radicals. The purpose of this study was to determine the phytochemical content and analyze the free radical scavenging of the ethanolic extract of neem leaves.

Methods: The design of this research is true experimental using the DPPH method which can determine the free radical capacity expressed in IC₅₀ values using quercetin solution as a positive control. The concentrations of neem leaf extract were 50, 100, 150, 200 and 250 ppm with the optimum incubation time of 50 minutes, used a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 515 nm.

Results and Analysis: The ethanolic extract of neem leaves (*Azadirachta indica*) taken from Sumenep Regency contains flavonoid compounds, steroids, alkaloids and saponins. Neem leaf extract has an IC₅₀ value of 94.73 g/mL, it is a strong antioxidant. Quercetin as a positive control obtained a value of 4.78 g/mL, it is a very strong antioxidant.

Conclusion: Neem leaves ethanol extract contain a phytochemical compound, cause of the effect of neem leaves use as antioxidant. Neem leaves can use as exogenous antioxidant.

Keywords: Antioxidant, Neem Leaf (*Azadirachta indica*), DPPH.

* Author

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, kasih dan karunia-Nya, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Terhadap Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*)”.

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

1. Drs. H. Said Mardjianto, S.Kep., Ns., MM selaku rector Universitas dr. Soebandi Jember;
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi;
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi;
4. Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Arief Judi Susilo, S.Kep.,M.Kep selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini;

6. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku ketua dosen penguji yang telah bersedia menjadi dosen penguji dan memberikan saran serta kritik yang membangun bagi skripsi penulis;
7. Seluruh dosen FIKES Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi dan para guru saya, dari TK sampai SMF yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan sabar;
8. Mbak Nanda selaku laboran laboratorium kimia dan Kak Nabila selaku laboran laboratorium biologi di Universitas dr Soebandi Jember yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian;
9. Wina, Lutfia, Ida Ayu dan Hamdan yang menjadi teman pada saat peneliti sedang penelitian di Laboratorium.
10. Teman-teman angkatan 2018 Farmasi Universitas dr Soebandi Jember

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 25 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Peneliti	5
1.4.2 Bagi Peneliti Lain	5
1.4.3 Bagi Masyarakat	6
1.4.4 Bagi Ilmu Pengetahuan	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Mimba	7
2.1.1 Morfologi Tanaman Mimba	7
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Mimba	8
2.1.3 Penelitian Daun Mimba	9
2.1.4 Manfaat Daun Mimba	10
2.1.5 Kandungan Kimia Daun Mimba	11
2.1.6 Efek Samping Daun Mimba	11
2.2 Radikal Bebas	11
2.2.1 Definisi	11
2.2.2 Sumber Dan Mekanisme	12
2.2.3 Penyakit Yang Ditimbulkan	14
2.3 Antioksidan	14
2.3.1 Definisi	14
2.3.2 Sumber Antioksidan	15
2.3.3 Mekanisme Reaksi Antioksidan	15
2.4 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	16

2.5	Senyawa Metabolit Sekunder	18
2.5.1	Flavonoid	18
2.5.2	Alkaloid	18
2.5.3	Saponin	19
2.5.4	Tanin	20
2.5.5	Steroid	21
2.5.6	Triterpenoid	21
2.6	Ekstraksi	22
2.6.1	Definisi	22
2.6.2	Macam-macam Ekstraksi	22
2.7	Instrument Spektrofotometri UV-Vis	27
2.8	Pengujian Secara In Vitro	30
BAB III KERANGKA KONSEP		32
3.1	Kerangka Konsep	32
3.2	Hipotesis Penelitian	33
BAB IV METODE PENELITIAN		34
4.1	Jenis Penelitian	34
4.2	Sampel	34
4.3	Populasi	34
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	35
4.5	Variabel Penelitian	35
4.5.1	Variabel Bebas	35
4.5.2	Varabel Terikat	35
4.5.3	Variabel Terkendali	35
4.6	Definisi Operasional	36
4.7	Alat dan Bahan	36
4.7.1	Alat	36
4.7.2	Bahan	37
4.8	Rancangan Operasional	38
4.9	Prosedur Kerja dan Pengumpulan Data	39
4.9.1	Deteminasi Tanaman	39
4.9.2	Pemuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba	39
4.9.3	Skrining Fitokimia	39
4.9.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	41
4.10	Standar Operasional Prosedur	43
4.11	Analisis Data	44
BAB V HASIL PENELITIAN		45
5.1	Hasil Determinasi Tanaman Mimba	45
5.2	Pengambilan dan Pengolahan Simplisia daun Mimba	45
5.3	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba	45
5.4	Skrining Fitokimia	46
5.5	Pengukuran Aktivitas Antioksidan	47
5.5.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimal	47
5.5.2	Optimasi Waktu Inkubasi	47
5.5.3	Pengukuran IC ₅₀ Larutan Ekstran dan Kuersetin	48

BAB VI PEMBAHASAN	51
6.1 Pengambilan dan Pengolahan Daun Mimba	51
6.2 Skirining Fitokimia Daun Mimba	53
6.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan	55
6.3.1 Aktivitas Antioksidan Larutan Kuersetin	55
6.3.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba	58
BAB VII PENUTUP	61
7.1 Kesimpulan	61
7.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

1.1 Keaslian Penelitian	6
4.1 Definisi Operasional	36
4.2 Standar Operasional Prosedur	43
5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Mimba	46
5.2 Uji Skrinning Fitokimia	46
5.3 Optimasi Waktu Inkubasi	47
5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin dan Ekstrak Daun Mimba	49

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tanaman Mimba (<i>Azadirachta indica</i>)	8
2.2 Daun Mimba	9
2.3 Mekanisme DPPH Terhadap Aktivitas Antioksidan	17
2.4 Struktur Flavonoid	18
2.5 Struktur Alkaloid	19
2.6 Struktur Saponin	19
2.7 Struktur Tanin	20
2.8 Ekstraksi Maserasi	23
2.9 Alat dan Proses Perkolasi	23
2.10 Alat Infusa	24
2.11 Proses Refluks.....	25
2.12 Proses Soxhletasi	26
3.1 Kerangka Konsep	31
4.1 Kerangka Operasional	37
5.1 Grafik Antioksidan Larutan Kuersetin	49
5.2 Grafik Antioksidan Larutan Ekstrak Daun Mimba.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Mimba.....	67
Lampiran 2. Hasil Pengambilan dan Pengolahan Ekstrak Etanol Daun Mimba...	68
Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia	69
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Mimba	69
Lampiran 5. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Mimba dan Larutan Kuersetin...	70
Lampiran 6. Panjang Gelombang Larutan DPPH 50 ppm	72
Lampiran 7. Data <i>Operating Time</i> Larutan Kuersetin 100 ppm	73
Lampiran 8. Data <i>Operating Time</i> Larutan Ekstrak Daun Mimba 500 ppm	74
Lampiran 9. Data Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin.....	75
Lampiran 10. Grafik dan Perhitungan nilai IC_{50} Kuersetin	76
Lampiran 11. Data Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba.....	79
Lampiran 12. Grafik dan Perhitungan Nilai IC_{50} Ekstrak Daun Mimba.....	79

DAFTAR SINGKATAN

BHA	: Butylate Hydroxyanisole
BHT	: Butylate Hydroxytoluena
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
H	: Hidrogen
IC	: Inhibitory Concentration
O ₂	: Oksigen
OOH	: Radikal peroxy
OH	: Hidroksi
PG	: Propil Gallate
ppm	: parts per million
RH	: Radikal Bebas
ROOH	: Hidroperoksida
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SE	: Standar Error
SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
TBHQ	: Tertiary Butyl Hydroquinon
UV	: Ultra Violet
UV-Vis	: Ultra Violet-Visible

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species (ROS)* adalah senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan sangat reaktif mencari pasangannya dengan cara menyerang dan mengikat molekul yang ada di sekitarnya (Wiendarlina and Sukaesih, 2019) (Wiendarlina dan Sukaesih, 2019). Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang dikonsumsi. Radikal bebas dapat diperoleh dari luar tubuh (eksogen) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan yang telah hangus (carbonated) dan sinar UV (Sari, 2015). Radikal bebas akan menyerang makromolekul penting, kerusakan pada sel terutama terjadi pada lemak, protein, dan DNA (Midah *et al.*, 2021). Bila terjadi peningkatan ROS sedangkan kapasitas antioksidan tetap atau bahkan berkurang, akan menyebabkan ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan.

Apabila sistem imunitas tubuh tidak lagi dapat mentoleransi keberadaan senyawa radikal bebas maka, keseimbangan kinerja radikal bebas dari dalam maupun dari luar tubuh yang masuk ke dalam tubuh melalui lingkungan dengan kadar antioksidan dalam tubuh akan muncul sebagai penyakit. Mekanisme kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas cukup kompleks melalui reaksi

berantai hingga terjadi stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel (Andarina and Djauhari, 2017).

Stress Oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi peningkatan radikal bebas yang tidak diimbangi oleh peningkatan antioksidan di dalam tubuh. Hal ini membuat sel tidak berfungsi sebagai mestinya. Stress oksidatif berperan penting dalam patofisiologi terjadinya proses menua dan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus dan komplikasinya serta aterosklerosis yang mendasari penyakit jantung pembuluh darah dan stroke (Werdhasari, 2014).

Untuk mencegah stres oksidatif, tubuh memerlukan antioksidan guna menetralkan ROS, sehingga kerusakan oksidatif dapat dihindari dan proses penyakit dapat dihentikan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang berfungsi untuk menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara mencegah reaksi oksidasi dari rantai radikal bebas, menunda atau menghambat proses oksidasi, atau dengan cara memperlambat peroksidasi lipid (Li'aini, Wibawa and Lugrayasa, 2021). Antioksidan cenderung bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu dibandingkan dengan molekul yang lain. Karena antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat dibanding dengan molekul yang lain, maka semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut (Khaira, 2010).

Antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, seperti Superoksida Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GSHPx) dan Catalase (CAT) dan antioksidan eksogen, didapat dari luar tubuh/makanan (Werdhasari, 2014). Antioksidan eksogen dapat ditemukan pada beberapa tanaman di Indonesia yang

tidak diketahui oleh sebagian masyarakat. Aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman diperkirakan mempunyai kekuatan sedang sampai tinggi (Khaira, 2010). Banyak penelitian tentang obat tradisional sebagai hasil dari kajian ilmiah tentang khasiat atau manfaat dari suatu tanaman yang berpotensi sebagai obat (Handoyo and Pranoto, 2020). Salah satunya berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Pada penelitian Malangngi, Sangi and Paendong, (2012), ekstrak biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Serta pada ekstrak kulit batang bintangtur yang memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dan tidak toksik (Septiana and Simanjuntak, 2017). Berbagai bahan alam asli Indonesia memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya (Werdhasari, 2014). Salah satu tanaman yang belum banyak diketahui dan juga belum banyak diteliti sebagai antioksidan, yaitu daun mimba (*Azadirachta indica*). Daun mimba mengandung senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, alkaloid dan steroid (Pratama, Sarjono and Mulyani, 2015; Supriyanto *et al.*, 2017)

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* Juss.) adalah tanaman yang termasuk dalam family *Meliaceae* dan banyak ditemukan di negara-negara tropic seperti India, Pakistan, Burma dan Indonesia (Asif, 2012). Secara empiris telah dikenal masyarakat sebagai obat tradisional yang dapat mengatasi berbagai macam penyakit seperti cacingan, kudis, malaria, infeksi jamur dan alergi. Tanaman Mimba mengandung komponen imunomodulator yang dapat memodulasi respon imun. Hasil penelitian (Nahak and Sahu, 2011) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga mimba lebih tinggi daripada ekstrak metanol

bahkan ekstrak air bunga mimba. Besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai IC_{50} . IC_{50} merupakan nilai konsentrasi yang dibutuhkan oleh sampel untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Penelitian ini menggunakan pengujian secara *in vitro*. Pengujian *in vitro* adalah pengujian diluar tubuh makhluk hidup. Pada penelitian ini uji *in vitro* dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Martiningsih *et al.*, 2016). Keunggulan dari metode DPPH yaitu mudah, akurat, sensitive, relative murah dan reproduksibilitasnya tinggi (Boligon, 2014). Oleh karena itu, penelitian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol daun mimba akan diuji menggunakan DPPH karena metode ini sederhana dan cepat. Dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) yang memenuhi maka bisa dilihat dari hasil hambatan antioksidan terhadap radikal bebas sebesar 50%.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kandungan fitokimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*)?
2. Berapa nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

1.3.2.2 Menganalisis aktivitas antioksidan secara in vitro terhadap ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) menggunakan metode DPPH.

1.4 Manfaat

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

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi dari referensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi bagi masyarakat mengenai potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

1.4.4 Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan informasi dan menambah pengetahuan mengenai potensi antioksidan pada ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Peneliti	Persamaan	Perbedaan
(Supriyanto <i>et al.</i> , 2017)	- Menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis. - Kuersetin sebagai larutan pembanding.	- Menggunakan pelarut air, metanol 60%, 80% dan etanol 60%, 80%. - Konsentrasi larutan sampel
(Pandey, Verma and Singh, 2014)	- Menggunakan metode remaserasi - Konsentrasi larutan uji sampel	- Menggunakan pelarut etanol 50%

Sumber: (Supriyanto *et al.*, 2017 dan Pandey *et al.*, 2014)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

2.1.1 Morfologi Tanaman Mimba

Menurut Kementerian Pertanian RI, 2016 tanaman mimba saat ini dapat dijumpai di provinsi Banten, Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Lombok, dan Sumbawa. Tanaman mimba merupakan pohon yang tingi batangnya dapat mencapai 20 m. Buah mimba dihasilkan dalam satu sampai dua kali setahun, berbentuk oval, bila masak daging buahnya berwarna kuning, biji ditutupi kulit keras berwarna coklat dan didalamnya melekat kulit buah berwarna putih. Batangnya agak bengkok dan pendek, oleh karena itu kayunya tidak terdapat dalam ukuran besar.

Daun mimba merupakan daun majemuk menyirip genap yang tersusun spiralis dan mengumpul di ujung rantai. Anak daun berjumlah genap diujung tangkai, dengan jumlah helaian 8-16. tepi daun bergerigi, bergigi, beringgit, helaian daun tipis seperti kulit dan mudah layu. Bangun anak daun memanjang sampai setengah lancet, pangkal anak daun runcing, ujung anak daun runcing dan setengah meruncing, glandul atau sedikit berambut. Panjang anak daun 3-10,5 cm. Helaian anak daun berwarna coklat kehijauan, bentuk bundar telur memanjang tidak setangkup sampai serupa bentuk bulan sabit agak melengkung, panjang helaian daun 5 cm, lebar 3 cm sampai 4 cm. Ujung daun meruncing, pangkal daun miring, tepi daun bergerigi kasar. Tulang daun menyirip, tulang cabang utama

umumnya hampir sejajar satu dengan lainnya. Tumbuhan liar di hutan dan di tempat yang tanahnya agak tandus, ada yang ditanam orang ditepi-tepi jalan sebagai pohon perindang (Wayan Seriasih, 2020).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Mimba

Menurut *Global Biodiversity Information Facility*, 2021 tanaman mimba termasuk dalam keluarga Meliaceae. Berikut klasifikasi dari tanaman mimba (*Azadirachta indica*) :

Kingdom : Plantae
 Phylum : Tracheophyta
 Class : Magnoliopsida
 Order : Sapindales
 Family : Meliaceae
 Genus : *Azadirachta* A. Juss.
 Species : *Azadirachta indica* A. Juss. (Sinonim : *Azadirachta excels* (Jack) Jacobs.



(Sumber : Wikipedia, 2021)

Gambar 2.1 Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)



(Sumber : Wikipedia, 2021)
Gambar 2.2 Daun Mimba

2.1.3 Penelitian Daun Mimba

Saat ini, tanaman mimba telah banyak diteliti dengan uji aktivitas yang berbeda. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Hidana and Susilawati, (2017) dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 60% dapat menghambat perubahan telur menjadi larva. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar jumlah kematian telur pada nyamuk *Aedes aegypti*. Tetapi lebih efektif pada ovisida telur nyamuk *aedes aegypti* dengan konsentrasi minimal yaitu 30%. Pada uji aktivitas antidiabetes, penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit daun mimba memiliki potensi sebagai antidiabetes. Senyawa yang terdapat dalam daun mimba seperti flavonoid, saponin dan terpenoid/steroid dapat menghambat α -glukosidase (Pratama, Sarjono and Mulyani, 2015).

Daun mimba tidak hanya diformulasi dalam sediaan oral. Pada penelitian yang dilakukan Fatmasari, (2020) daun mimba yang dikombinasi dengan perasan lemon dapat dijadikan masker yang digunakan untuk perawatan kulit yang berjerawat. Pada penelitian uji aktivitas larvasida terhadap larva lalat *Sarcophaga*. Daun mimba dengan konsentrasi 25% memberikan jumlah kematian larva yang

lebih tinggi dibandingkan kontrol positif (pengguna minuman bersoda) dengan perbedaan persentase sebesar 60%. Proses perebusan daging dengan daun mimba yang akan digunakan sebagai sarana upacara dapat dilakukan untuk menghindari pembusukan yang disebabkan oleh lalat daging (*Sarchopaga*). Kandungan flavonoid, alkaloid dan tanin dalam daun mimba dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan motilitas bakteri merusak membran sel bakteri sehingga sel bakteri akan lisis (koagulator protein) pertama dalam proses remodeling serta menghambat pertumbuhan fibroblast sehingga perawatan luka akan lebih mudah (Karta *et al.*, 2017).

2.1.4 Manfaat Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Masyarakat belum sepenuhnya mengetahui manfaat tanaman ini, populasi daun mimba hanya digunakan sebagai pakan ternak. Pada umumnya, tanaman mimba memiliki khasiat sebagai pestisida alami. Pada bagian biji mimba dapat dimanfaatkan sebagai pestisida alami yang ramah lingkungan. Menurut (Susmitha *et al.*, 2013) mengatakan bahwa daun mimba memiliki aktivitas sebagai anti bakteri terhadap *E.coli* dan *Salmonella sp.*

Wantannas RI (2018), menyatakan bahwa daun mimba memiliki khasiat sebagai obat antikanker, yang secara efektif mampu menekan sifat karsinogen yang dapat mencegah atau memperlambat pertumbuhan beberapa jenis sel kanker. Sebuah penelitian tahun 2012 dalam *Archives of Gynecology and Obstetrics* menemukan bahwa penderita kanker serviks yang dirawat dengan pengobatan medis dan ekstrak mimba dapat mencegah peningkatan keparahan sel kanker sehingga dapat menurunkan risiko kematian. Penelitian lain melaporkan bahwa

ekstrak mimba berpotensi sebagai antikanker pada pertumbuhan sel kanker prostat.

2.1.5 Kandungan Kimia Daun Mimba

Dari suatu penelitian, hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun mimba mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, kuinon, triterpenoid dan steroid (Pratama *et al.*, 2015).

2.1.6 Efek Samping Daun Mimba

Pada umumnya, obat tradisional tidak memiliki efek samping. Obat tradisional jika dikonsumsi secara berlebihan, maka akan terjadi efek yang tidak diinginkan (efek samping). Tanaman Mimba mengandung beberapa senyawa yang bersifat toksik. Senyawa yang bersifat toksik adalah azadirachtin, nimbin, nimbidin, dan salannin. Senyawa lain yang diduga memiliki aktivitas toksik yang tinggi adalah azadirachtin. Efek samping Mimba diduga dapat menyebabkan kerusakan struktur hati dan ginjal (Kusuma *et al.*, 2019).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Definisi

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* adalah senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan sangat reaktif mencari pasangan-nya dengan cara menyerang dan mengikat molekul yang ada di sekitarnya (Wiendarlina and Sukaesih, 2019). Radikal bebas dibentuk secara alamiah melalui metabolisme sel fisiologis, radikal juga mencari reaksi-reaksi agar memperoleh kembali electron pasangannya.

Suatu radikal bebas dapat bermuatan positif atau negatif, yang menyebabkan sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan (Sari, 2016). Bahkan radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya penyakit degenerative. Apabila produksi radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan di dalam tubuh, maka akan mengakibatkan terjadinya stress oksidatif, apoptosis atau nekrosis.

2.2.2 Sumber dan Mekanisme

Sumber radikal bebas bersifat internal (dalam tubuh) dan bersifat eksternal (luar tubuh). Radikal bebas internal berasal dari oksigen yang kita hirup. Oksigen menghasilkan banyak energi namun, hasil samping dari reaksi pembentukan energi tersebut akan menghasilkan *reactive oxygen species*. Metabolisme aerobik yang merupakan proses penting dalam kehidupan organisme selalu diikuti oleh terbentuknya radikal bebas. Proses metabolisme terjadi karena teroksidasinya zat-zat makanan yang dikonversi menjadi senyawa pengikat energi (adenosin triphospat) dengan bantuan oksigen. Dalam proses oksidasi itu terbentuk juga radikal bebas yaitu anion superoksida dan hidroksil radikal.

Sumber radikal bebas eksternal dapat berasal dari polusi udara, alkohol, asap rokok, radiasi sinar UV, obat-obatan tertentu seperti anestesi pestisida, sinar-X dan kemoterapi. Radikal bebas juga dihasilkan dari proses pengolahan makanan yang berlebihan. Proses pengolahan makanan dengan cara menggoreng, membakar atau memanggang dengan suhu yang terlalu tinggi terutama pada makanan hewani berkadar protein dan lemak tinggi, sebaiknya tidak sering dilakukan karena akan menimbulkan dampak terbentuknya radikal bebas (Khaira,

2010).

Radikal bebas yang mengambil electron dari tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA (*Deoxy Nucleic Acid*) hingga timbul sel-sel mutan. Kerusakan struktur DNA pada inti sel disebabkan oleh senyawa radikal bebas. Akibatnya, pembelahan sel terganggu hingga terjadi perubahan abnormal mengenai gen tertentu dalam tubuh yang menyebabkan penyakit kanker. Komponen terpenting yaitu membrane sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Akibatnya, struktur dan fungsi membran akan berubah menjadi lebih ekstrim yaitu mematikan sel-sel pada jaringan tubuh. Misalnya kerusakan sel organ tubuh (Fakriah *et al.*, 2019).

Pada lipid terjadi proses peroksidasi oleh enzim lipid peroksidase dengan mengambil atom hidrogen yang berasal dari *poly unsaturated fatty acid*, sehingga membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh menjadi rentan terhadap oksidasi. Proses ini menyebabkan pembentukan radikal peroksil. Radikal peroksil akan menyerang molekul lipid lain jika tidak stabil, sehingga mempengaruhi integritas dan permeabilitas membran sel hingga mengakibatkan kerusakan membran sel. Pada karbohidrat terbentuk radikal bebas karbon dan hidrogen bebas. Radikal bebas mengikat komponen karbohidrat membran plasma secara kovalen sehingga membentuk *carbon centered radical*. *Carbon centered radical* berinteraksi dengan molekul karbohidrat lain sehingga terjadi reaksi rantai auto katalitik dan menyebabkan kerusakan membran sel (Andarina and Djauhari, 2017).

2.2.3 Penyakit Yang Ditimbulkan

Radikal bebas sangat labil dan reaktif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada DNA, lipid, protein dan karbohidrat. Kerusakan yang dapat ditimbulkan ada berbagai penyakit seperti, diabetes mellitus, kanker dan aterosklerosis (Sari, 2016). Radikal bebas yang salah satunya berupa sinar ultraviolet dapat menyebabkan kerusakan kulit. Sinar UV yang berlebih dapat menimbulkan beberapa masalah terhadap kulit, mulai dari kulit kemerahan, pigmentasi, bahkan untuk jangka waktu yang lama dapat menimbulkan kanker (Sari, 2015).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Definisi

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dan menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat radikal hingga aktivitasnya dapat dihambat.

Saat ini, penggunaan senyawa antioksidan dan anti radikal semakin meluas seiring dengan besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif. Masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor atau penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas aktif (Ikhrar, Yudistira and Wewengkang, 2019).

2.3.2 Sumber Antioksidan

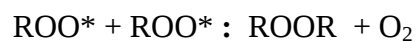
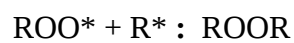
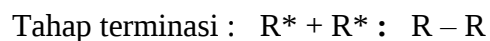
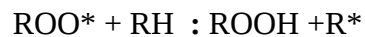
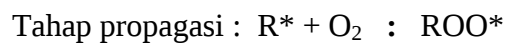
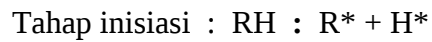
Berdasarkan penelitian Hani and Milanda, (2016) antioksidan dibagi menjadi 2 antara lain, yaitu antioksidan eksogen dan endogen. Antioksidan endogen merupakan senyawa antioksidan yang terdapat di dalam tubuh seperti glutathione, peroksidase dan katalase, namun jumlahnya tidak mampu mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih.

Antioksidan eksogen dibagi menjadi 2 berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Contoh antioksidan sintetis adalah BHA (*butylatedhydroxyanisole*), BHT (*butylatedhydroxytoluene*), TBHQ (*tertiary butyl hydroquinone*), dan PG (*propyl gallate*). Antioksidan alami dapat memiliki efek karsinogenesis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan. Beberapa senyawa kimia dalam tumbuhan yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan, diantaranya berasal dari golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan β -karoten.

2.3.3 Mekanisme Reaksi Antioksidan

Berdasarkan penelitian Andarina and Djauhari, (2017) antioksidan melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan mendonorkan satu elektron bebas ke radikal atau menerima satu elektron yang tidak stabil sehingga menjadi stabil dan menghentikan reaksi rantai serta mencegah terjadinya kerusakan pada DNA, lipid dan protein. Pembentukan antioksidan secara fisiologis akan menyeimbangkan antara faktor prooksidan (ROS) dan antioksidan sehingga stres oksidatif tidak terjadi.

Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:

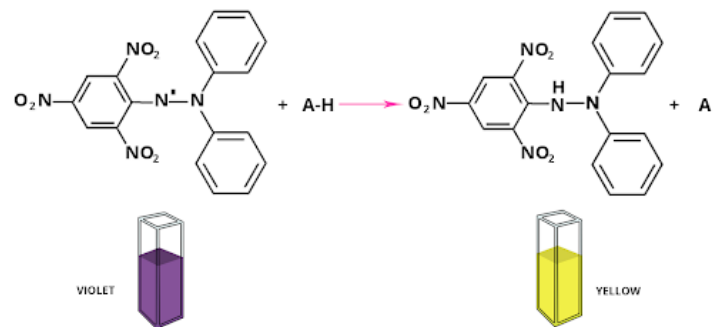


Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas yang sangat reaktif karena melepaskan satu atom H. Pada tahap propagasi, radikal mengikat oksigen membentuk radikal peroksi yang kemudian akan menyerang RH menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks.

Dengan adanya antioksidan, antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas, dengan mengubah bentuk yang lebih stabil. Sementara turunan radikal antioksidan memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula (Inggrid and Santoso, 2014).

2.4 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Uji DPPH digunakan untuk memprediksi aktivitas antioksidan dengan mekanisme antioksidan yang bertindak untuk menghambat oksidasi lipid dan untuk menentukan kapasitas radikal bebas (Sikrovankova *et al.*, 2012).



(Sumber : Chimactiv, 2021)

Gambar 2.3 Mekanisme DPPH terhadap aktivitas antioksidan

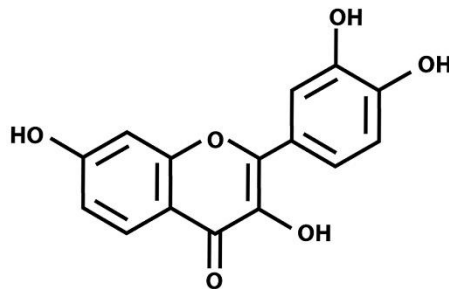
Mekanisme antioksidan bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning, intensitas warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal. Pada metode ini yang diukur adalah aktivitas penghambatan radikal bebas. DPPH digunakan secara luas untuk menguji aktivitas antioksidan makanan. Warna berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H (Inggrid and Santoso, 2014). Menurut Li'aini *et al.*, (2021) aktivitas antioksidan suatu ekstrak dikategorikan dalam empat tingkat berdasarkan nilai IC_{50} yang dihasilkan, yaitu sebagai berikut:

- Sangat kuat : <50 ppm
- Kuat : 50 ppm – 100 ppm
- Sedang : 100 ppm – 150 ppm
- Lemah : 150 ppm – 200 ppm

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

2.5.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, tidak terdapat pada alga, mikroorganisme, bakteri, lumut, jamur. Senyawa flavonoid termasuk kelompok senyawa fenol terbesar yang di-temukan di alam. Sekitar 5-10% metabolit sekunder tumbuhan adalah flavonoid, dengan struktur kimia dan peran biologis yang sangat beragam. Senyawa ini dibentuk dari jalur shikimat dan fenilpropanoid, dengan beberapa alternatif biosintesis.



(Sumber : Redha, 2010)

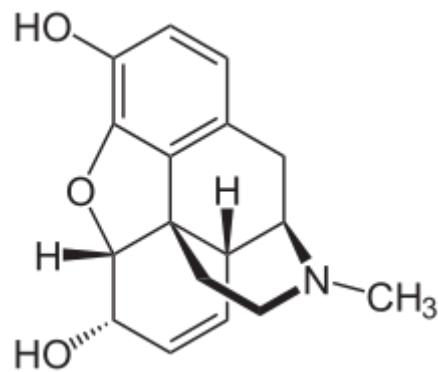
Gambar 2.4 Struktur Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan zat warna alam (merah, ungu, dan biru, serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan). Sebagian besar senyawa flavonoid ditemukan dalam bentuk glikosida dan juga sebagai aglikon flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Angiospermae) (Heliawati, 2017).

2.5.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen heterosiklik, biosintesa berasal dari asam amino dan bukan asam amino. Dalam dosis kecil, alkaloid dapat memberikan aktivitas biologi yang cukup kuat. Kegunaan alkaloid bagi tanaman yaitu sebagai zat racun untuk melawan serangan

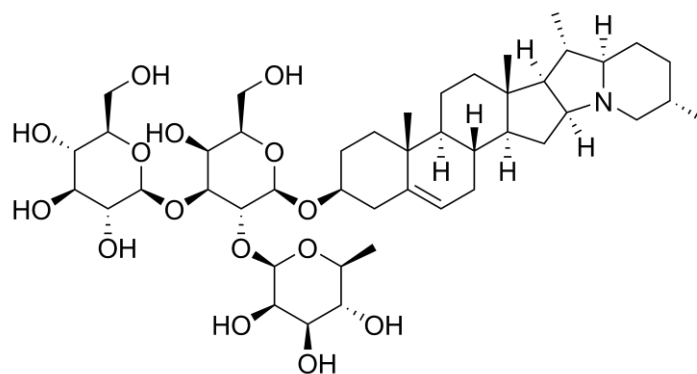
maupun hewan herbivora dan sebagai cadangan unsur nitrogen untuk mengidentifikasi. Alkaloid dapat dilakukan dua cara yaitu melalui reaksi pengendapan dan reaksi warna (Endarini, 2016).



(Sumber : Hanani, 2014)
Gambar 2.5 Struktur Alkaloida

2.5.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya.



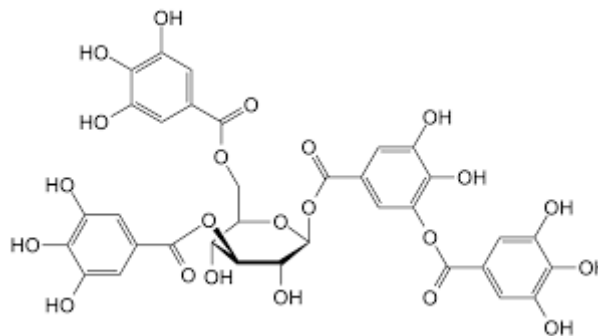
(Sumber : Noer *et al.*, 2018)
Gambar 2.6 Struktur Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti

sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (Yanuartono *et al.*, 2017).

2.5.4 Tanin

Tanin adalah polifenol yang disimpan dalam vakuola, sehingga ditemukan hampir di semua jaringan tumbuhan. Sementara tanin terhidrolisis dalam beberapa spesies dikotil, keberadaan alami dari tanin terkondensasi jauh lebih melimpah sehingga mereka mewakili sumber utama dan lebih berharga dari tanin komersial.



(Sumber : Noer *et al.*, 2018)
Gambar 2.7 Struktur Tanin

Telah terbukti bahwa tanin dengan berat molekul lebih besar dan dengan jumlah gugus hidroksil yang lebih besar dalam strukturnya adalah tanin yang mencapai aksi antioksidan yang lebih baik. Berkat peningkatan kemampuannya untuk dioksidasi, tanin dengan tingkat polimerisasi yang lebih tinggi dan lebih banyak gugus hidroksil dalam strukturnya, memiliki sifat antioksidan yang lebih besar daripada tanin sederhana. Meskipun penelitian dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, mekanisme kerja tanin pada jaringan hewan masih belum diketahui. (Corral *et al.*, 2020).

2.5.5 Steroid

Steroid adalah senyawa bahan alam yang terdiri dari kerangka karbon dan terdiri atas tiga lingkaran enam perhidrofenantren dan terfusi menjadi suatu lingkaran lima. Hidrokarbon tersiklik jenuh yang mempunyai sistem lingkaran yang terdiri atas 17 atom karbon (*1,2-siklopentanaperhidrofenantren*).

Steroid yang terdapat di alam berasal dari triterpen. Steroid yang terdapat dalam jaringan hewan berasal dari triterpen lanosterol, sedangkan yang terdapat dalam jaringan tumbuhan berasal dari triterpen sikloartenol, setelah triterpen ini mengalami serentetan perubahan tertentu. Tahap-tahap awal dari biosintesis steroid adalah sama bagi semua steroid alam, yakni pengubahan asam asetat melalui asam mevalonat dan squalen (suatu triterpen) menjadi lanosterol atau sikloartenol.

2.5.6 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C₅ dan diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa golongan triterpenoid menunjukkan aktivitas farmakologi yang signifikan, seperti antiviral, antibakteri, antiinflamasi, sebagai inhibisi terhadap sintesis kolesterol dan sebagai antikanker (Nassar et al, 2010 dalam Balafif, Andayani and Gunawan, 2013).

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Definisi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa aktif dari bagian tanaman obat menggunakan pelarut yang sesuai. Pada dasarnya ekstraksi adalah proses perpindahan massa dari simplisia ke dalam pelarut organik yang sesuai. Pelarut organik akan menembus dinding sel kemudian akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Ekstraksi dapat dilakukan menggunakan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi. Hasil dari proses ekstraksi disebut dengan ekstrak (Marjoni, 2016). Menurut Farmakope Indonesia bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering.

2.6.2 Macam-macam Ekstraksi

1) Ekstraksi Dingin

Tujuan dari ekstraksi tersebut yaitu untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat thermolabil. Adapun metode ekstraksi dingin yaitu sebagai berikut:

(1) Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara perendaman simplisia nabati dengan pelarut yang sesuai yang disimpan dalam suhu kamar selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan. *Remaserasi* merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan

maserat pertama, dan seterusnya. Tujuan dilakukannya remaserasi yaitu agar mendapat zat aktif yang banyak.



Gambar 2.8 Ekstraksi Maserasi

(2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinue pada simplisia selama waktu tertentu.



Gambar 2.9 Alat dan proses perkolasi

Cairan hasil perkolasi dibiarkan keluar dari perkolator dengan membuka bagian pengeluaran (tutup bawah) perkolator. Sejumlah pelarut ditambahkan lagi (seperti membilas) sesuai dengan kebutuhan hingga cairan ekstrak yang diperoleh menjadi kurang lebih tiga per empat dari volume yang diinginkan dalam produk akhir. Ampas ditekan/dipress, dan

cairan yang diperoleh ditambahkan ke dalam cairan ekstrak. Selanjutnya, sejumlah pelarut ditambahkan lagi ke dalam cairan ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan volume yang diinginkan. Campuran ekstrak yang diperoleh dijernihkan dengan penyaringan atau sedimentasi dengan dilanjutkan dengan dekantasi (Endarini, 2016).

2) Ekstraksi Panas

Ekstraksi panas digunakan apabila senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya, yaitu:

(1) Seduhan

Seduhan merupakan ekstraksi paling sederhana hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu (5 – 10 menit).

(2) Penggodokan (Coque)

Penggodokan merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya langsung dikonsumsi sebagai obat. Baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hasil godokannya saja tanpa ampas.

(3) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit.



Gambar 2.10 Alat Infusa

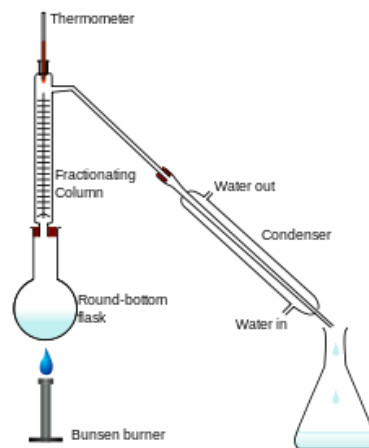
Kecuali dinyatakan lain, simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dimasukkan ke dalam panci infusa, kemudian ditambahkan air secukupnya yang dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit pada suhu 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Serkai selagi panas menggunakan kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki (Endarini, 2016).

(4) Dekokta

Proses penyarian simplisia nabati dengan air yang dilakukan menggunakan panci infusa diatas penangas air yang menggunakan waktu 30 menit setelah suhu mencapai 90°C . Ekstraksi ini hampir sama dengan metode infusa. Metode ini sudah jarang digunakan karena proses penyariannya kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil.

(5) Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor).

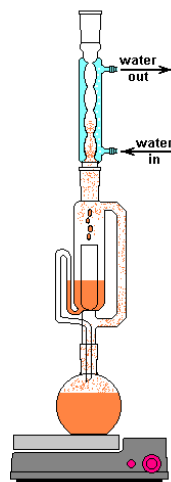


Gambar 2.11 Alat dan proses Refluks

Proses ini umumnya dilakukan 3 – 5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna.

(6) Soxhletasi

Proses soxhletasi merupakan proses ekstraksi panas yang menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soxhlet. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan suhu pada metode refluks.



Gambar 2.12 Alat dan proses soxhletasi

Keuntungan dari proses ini jika dibandingkan dengan proses-proses yang telah dijelaskan sebelumnya adalah dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Hal ini sangat menguntungkan jika ditinjau dari segi kebutuhan energi, waktu dan ekonomi. Metode ini memiliki kelemahan yaitu memerlukan waktu yang lama dan membutuhkan pelarut yang lebih banyak (Endarini, 2016).

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana dan paling banyak digunakan karena sesuai dalam skala kecil maupun skala industri. Adapun kelebihan dari metode maserasi yaitu, teknik pengerjaannya yang sederhana, biaya operasionalnya relatif rendah dan dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil.

2.7 Instrument Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar UV 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 di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang

200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Suarsa, 2015).

Pada penelitian ini, uji DPPH diukur dengan panjang gelombang maksimal menggunakan spektrofotometri UV-Vis kemudian nilai absorbansi dihitung menggunakan rumus (Sastrawan *et al.*, 2013). Absorbansi adalah perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi bergantung pada kadar zat yang terkandung di dalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung didalam suatu sampel (Neldawati, Ratnawulan and Gusnedi, 2013).

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 yang mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 - 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. 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 sinar kedua secara serentak melewati sampel (Suhartati, 2017).

Bagian-bagian Spektrofotometri UV-Vis menurut Suarsa (2015), terdiri dari :

1. Sumber cahaya

- a) Lampu Tungsten (Wolfram) : Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki panjang gelombang antara 350-2200 nm. Spektrum radiasinya berpagaris lengkung. Umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian.
- b) Lampu Deuterium : Lampu ini dipakai pada panjang gelombang 190-380 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah uv. Memiliki waktu 500 jam pemakaian.

2. Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang saat ini banyak digunakan adalah gratting atau lensa prisma dan filter optik. Monokromator terdiri atas:

- 1) Prisma, berfungsi mendispersikan radiasi elektromagnetik.
- 2) Kisi difraksi, berfungsi menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata.
- 3) Celah optis, berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diharapkan dari sumber radiasi
- 4) Filter, berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih.

3. Tempat sampel

Spektrofotometer UV-VIS menggunakan kuvet sebagai wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak. Cuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

Kuvet yang baik harus memenuhi beberapa syarat diantaranya adalah permukaannya harus sejajar secara optis, tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat di transmisikan tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia, tidak rapuh dan bentuknya sederhana.

4. Detektor

Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

Macam-macam detektor yang biasa digunakan:

- 1) Phototube dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150 – 1000 nm.
- 2) Photomultiplier dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150 – 1000 nm.

5. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

2.8 Pengujian Secara In Vitro

Sebelum dilakukan analisis kuantitatif terhadap antioksidan maka dilakukan analisis kualitatif aktivitas antioksidan terhadap pereaksi DPPH. Adanya aktivitas

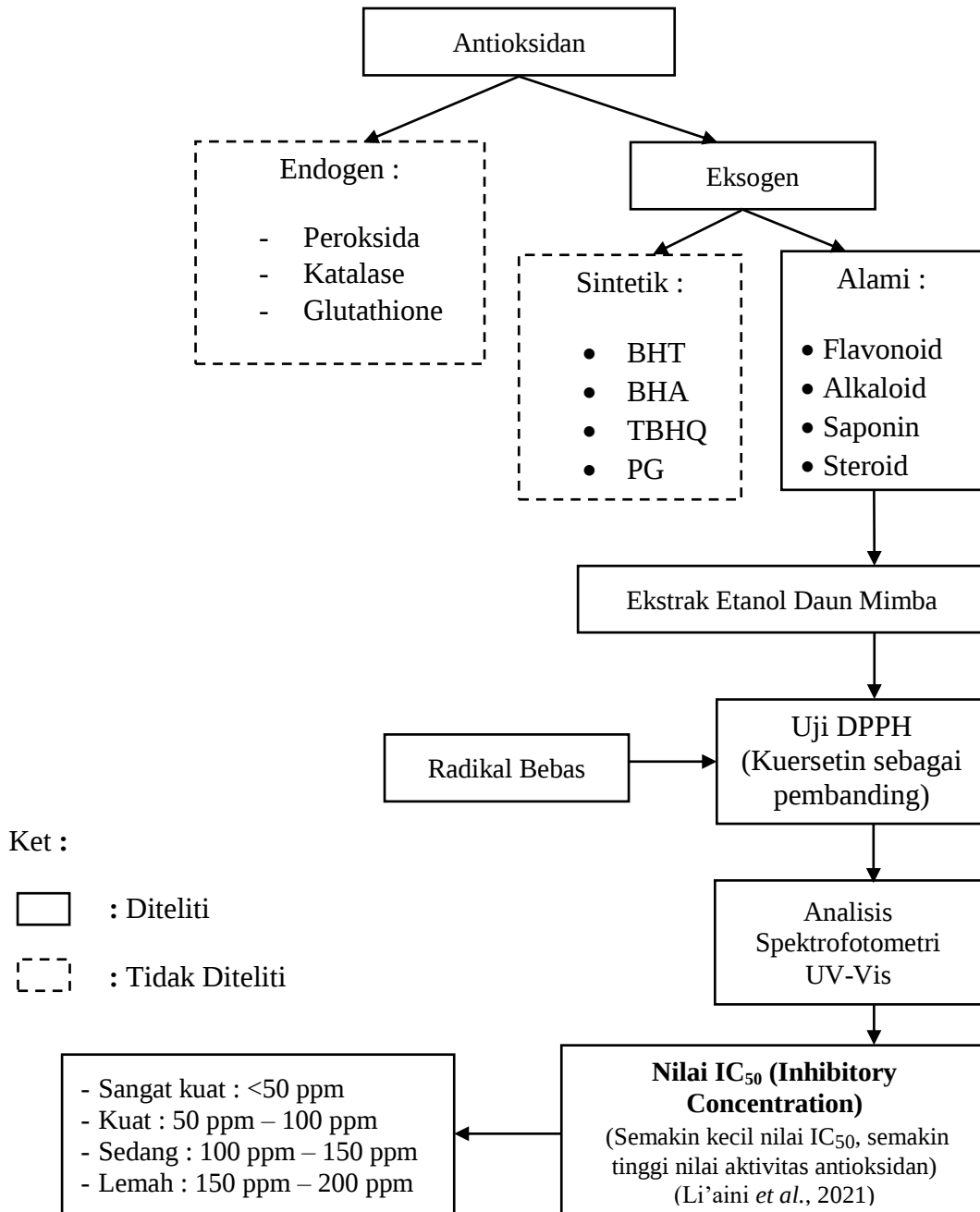
antioksidan pada sampel ekstrak dapat ditandai dengan adanya perubahan warna dari ungu ke warna kuning. Kemudian analisis kuantitatif berdasarkan besarnya aktivitas antioksidan. Pengukuran aktivitas antioksidan diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH.

Aktivitas antioksidan ekstrak dinyatakan dalam % inhibisi terhadap radikal DPPH. % inhibisi diperoleh dari perbedaan antara absorbansi DPPH kontrol dan sampel yang diukur menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai IC₅₀. IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi yang dibutuhkan oleh sampel untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menghitung konsentrasi tersebut menggunakan rumus persamaan regresi linear yang diperoleh dari grafik regresi linear hubungan konsentrasi dengan % inhibisi. Semakin kecil nilai % inhibisi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Hani & Millanda, 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Hipotesis adalah jawaban sementara terhadap masalah yang masih bersifat praduga karena masih harus dibuktikan kebenarannya. Berdasarkan konseptual di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

Ha : Terdapat senyawa aktif dan memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah suatu tahapan rencana kerja yang harus dilalui atau dibuat oleh seorang peneliti agar penelitian yang akan dilakukan dapat terlaksana sesuai dengan tujuan yang akan dicapai (Mulyadi, 2012). Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

4.2 Populasi

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

Populasi penelitian ini menggunakan daun mimba yang di dapat dari Sumenep, Madura diambil dari bagian cabang batang yang terkena sinar matahari.

4.3 Sampel

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

Sampel dalam penelitian ini adalah dari ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Universitas dr. Soebandi Jember dan penelitian ini dimulai pada bulan Juli-Agustus.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica*) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm.

4.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ berdasarkan persentase inhibisi.

4.5.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antioksidan, pengambilan sampel daun mimba, metode ekstraksi serbuk simplisia dan skrining fitokimia.

4.6 Definisi Operasional

Table 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Indikator	Alat ukur	Skala ukur	Hasil ukur
Aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun mimba (<i>Azadirachta indica</i>)	Menganalisis aktivitas peredaman radikal bebas terhadap ekstrak daun mimba yang ditentukan berdasarkan nilai IC50	Aktivitas antioksidan menggunakan persamaan regresi linear yang didapatkan dari hubungan antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi	- SK: <50 ppm - K: 50-100 ppm - S: 100-150 ppm - L: 150-200 ppm	Spektro UV-Vis	Ordinal	• Sangat Kuat • Kuat • Sedang • Lemah
Skrining fitokimia terhadap ekstrak daun mimba	Proses untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada ekstrak daun mimba menggunakan suatu reagen/ Pereaksi	Larutan ekstrak daun mimba yang ditambahkan dengan pereaksi tertentu hingga terjadi perubahan pada larutan ekstrak	- Warna hijau, jingga, biru, atau merah - Busa - Endapan	Larutan pereaksi atau reagen	Nominal	Perubahan terhadap larutan ekstrak daun mimba

4.7 Alat dan Bahan

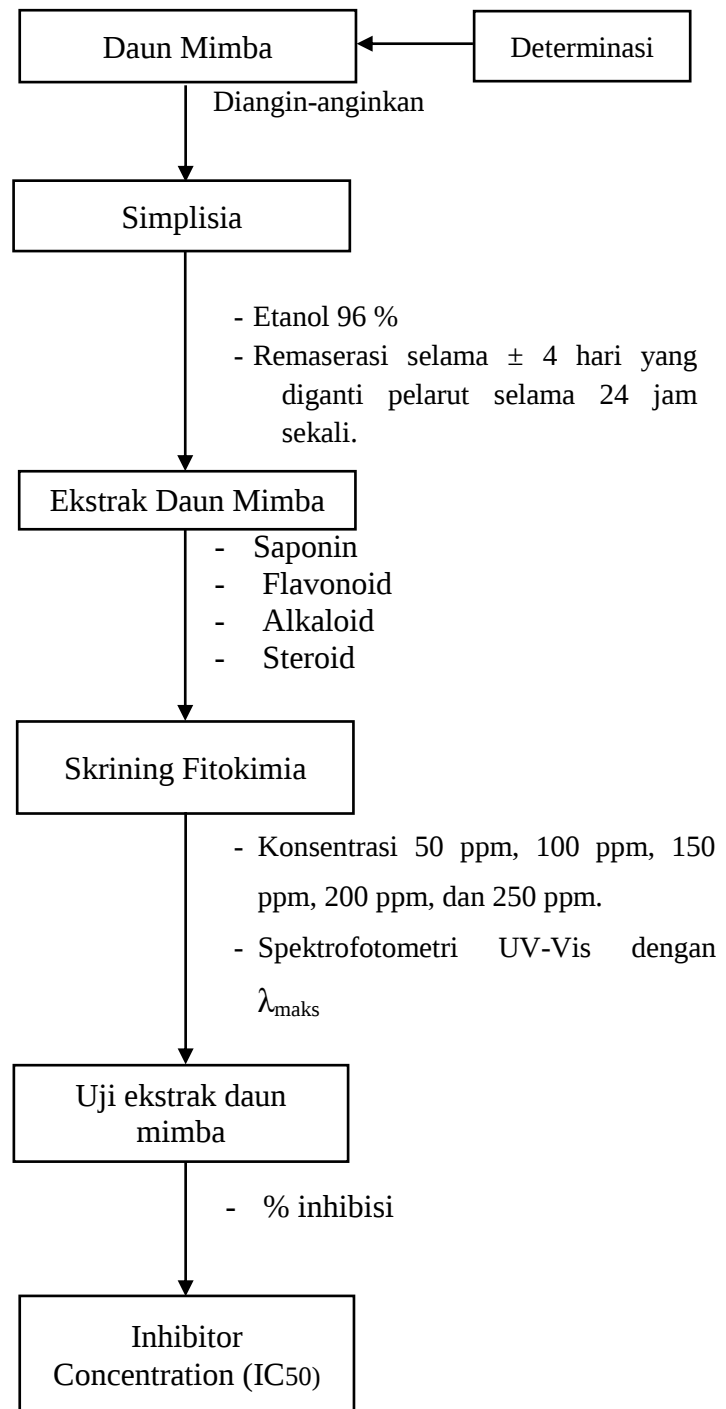
4.7.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain beaker glass (*Pharmex*), corong gelas, labu ukur (*Iwaki*), gelas arloji, waterbath, ultrasonik, timbangan analitik (*CHQ*), waterbath, spektrofotometer, toples maserasi, aluminium foil, spatula, vial, kuvet, blender, cawan, mikropipet, pipet tetes, dan stopwatch.

4.7.2 Bahan

Dalam penelitian ini, bahan yang digunakan antara lain simplisia daun mimba, kertas saring, etanol 96% teknis, etanol pa, DPPH, kuersetin, serbuk Mg, HCl pekat, air, amoniak, pereaksi Wagner, kloroform, asam sulfat, asam asetat anhidrat, dan NaOH 25%.

4.8 Rancangan Operasional



Gambar 4.1 Kerangka Operasional

4.9 Prosedur Kerja dan Pengumpulan Data

4.9.1 Determinasi Tanaman

Sebelum dilakukan penelitian terhadap daun Mimba (*Azadirachta indica*), terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.

4.9.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba

Daun mimba yang dipilih dibuat simplisia terlebih dahulu yang dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia daun mimba dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan.

Ekstraksi daun mimba menggunakan metode remaserasi. Ekstrak daun mimba dimaserasi sebanyak 100 g serbuk daun mimba yang direndam dalam etanol 96% sebanyak 500 mL selama 24 jam pada suhu kamar dalam wadah tertutup, kemudian disaring menggunakan corong *Buchner*. Ampas sisa maserasi kemudian diremaserasi lagi dengan etanol 96% sebanyak 250 mL dalam toples maserasi dan disimpan, maserat disaring menggunakan corong *Buchner*. Maserat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan dalam satu wadah dan diuapkan sebagian pelarut menggunakan waterbath dengan suhu 60° hingga diperoleh ekstrak kental.

4.9.3 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan.

1. Flavonoid

Sampel sebanyak 2 mL dicampur dengan 2 mL etanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Sampel kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pekat pada filtrat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, oranye dan hijau tergantung struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Endarini, 2016).

2. Alkaloid

Sampel sebanyak 2 mL dicampur dengan 2 mL kloroform dan 2 mL amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Sampel kemudian ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2N kemudian dikocok dan didiamkan. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi Wagner. Terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning menunjukkan adanya alkaloid.

3. Saponin

Sampel sebanyak 2 mL ditambahkan 2 mL NaOH 25%, kemudian dididihkan dengan 20 mL air dalam penangas air. Filtrat dikocok kemudian didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Palupi *et al.*, 2016).

4. Steroid

Sampel sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 2 mL kloroform, ditambah 3 tetes asam sulfat pekat dan 10 tetes asam asetat anhidrat. Perubahan warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Palupi *et al.*, 2016).

4.9.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg yang dilarutkan dengan etanol pa dalam labu ukur 100 mL. Larutan DPPH yang telah dibuat dijaga pada suhu rendah dan terlindung dari paparan cahaya matahari langsung (Budiarti and Kurnianingrum, 2015).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan baku DPPH 50 ppm dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam kuvet dan diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis, kemudian dicatat absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm. Dari kurva serapan, dapat ditentukan panjang gelombang maksimum (Febrianti *et al*, 2021).

3. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Mimba Menggunakan Etanol p.a

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak daun mimba yang dilarutkan menggunakan etanol pa yang dihomogenkan sampai volumenya 100 mL hingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 500 ppm. Ekstrak dilarutkan menggunakan getaran ultrasonik agar terlarut sempurna. Kemudian dilakukan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol hingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak.

4. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin dibuat dengan menimbang 5 mg kuersetin

yang dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL ditambahkan sedikit etanol pa, dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga di dapat konsentrasi larutan kuersetin 100 ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dengan memipet sebanyak volume yang telah dihitung dari larutan induk yang dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL ditambahkan etanol pa sampai tanda batas.

5. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet larutan DPPH dan larutan dari masing-masing uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm) dan masing-masing larutan kuersetin dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm). Kemudian diamati pada panjang gelombang maksimum yang didapat mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit.

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Mimba dan Larutan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 1 mL dari masing-masing konsentrasi larutan uji ekstrak daun mimba (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm) dan kuersetin dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm) kemudian ditambahkan 3 mL larutan DPPH sampai homogen. Kemudian campuran diinkubasi dalam

suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum.

Persentase hambatan (IC_{50}) DPPH terhadap radikal dari masing-masing konsentrasi. Larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berdasarkan rumus tersebut, makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal. Aktivitas antioksidan dinyatakan secara kuantitatif dengan IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (Ingrid & Santoso, 2014).

4.10 Standar Operasional Prosedur

Tabel 4.2 Standar Operasional Prosedur

Kegiatan	Prosedur
Pembuatan simplisia daun mimba	1. Pengambilan daun dari cabang batang yang terkena matahari 2. Sortasi basah 3. Dicuci menggunakan air mengalir 4. Dilakukan perajangan daun 5. Daun diangin-anginkan sampai kering 6. Sortasi kering
Pembuatan ekstrak daun mimba	1. Simplisia daun mimba di haluskan menggunakan alat 2. Penimbangan serbuk daun mimba dan pengukuran etanol 96% 3. Dilakukan ekstraksi menggunakan metode remaserasi selama 3 hari yang diganti pelarut setiap 24 jam sekali 4. Gabungan filtrat yang dihasilkan dari penyaringan, diuapkan menggunakan evaporator hingga mendapatkan ekstrak kental 5. Hitung % rendemen.
Skrining fitokimia terhadap ekstrak daun mimba	1. Melarutkan ekstrak daun mimba dengan pelarut (etanol pa) 2. Mengambil larutan uji yang ditambahkan dengan pereaksi. 3. Amati perubahan yang terjadi pada larutan uji setelah ditambahkan dengan pereaksi

	4. Dilihat dari adanya perubahan warna, endapan, maupun adanya busa.
Pengujian aktivitas antioksidan	1. Membuat larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm. 2. Menentukan panjang gelombang maksimal menggunakan larutan DPPH sebagai blanko. 3. Menentukan Absorbansi larutan DPPH yang diukur pada λ maksimal. 4. Pembuatan larutan uji ekstrak menggunakan etanol pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. 5. Pembuatan larutan pembanding kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. 6. Dilakukan optimasi waktu inkubasi yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. 7. Perhitungan nilai IC_{50} berdasarkan rumus % aktivitas inhibisi.

4.11 Analisis Data

Data pengamatan pada penelitian ini adalah data kuantitatif yang berupa uji aktivitas antioksidan. Hasil uji skrining fitokimia dilakukan dari pencampuran larutan ekstrak dengan pereaksi hingga terjadi perubahan terhadap larutan tersebut. Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel. Daya antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang didapatkan dari hubungan antara konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) dengan % inhibisi (Hani & Millanda, 2016).

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman Mimba (*Azadirachta indica*)

Determinasi Tanaman dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi tanaman menunjukkan apabila daun mimba yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah spesies *Azadirachta indica*, A. Juss yang tergolong dalam famili *Meliaceae*. Hasil identifikasi daun mimba dapat dilihat pada (Lampiran 1).

5.2 Pengambilan Dan Pengolahan Simplisia Daun Mimba

Daun mimba yang digunakan diambil dari Kec. Saronggi, Kab. Sumenep. Daun mimba diambil dari bagian cabang batang yang terkena sinar matahari. Anak daun dipisahkan dari ibu dan anak tangkai daun. Kemudian daun mimba dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama $\pm$ 5 hari. Simplisia daun mimba yang telah kering, diblender sampai menjadi serbuk halus. Pengambilan dan pengolahan daun mimba dapat dilihat pada (Lampiran 2)

5.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba

Simplisia daun mimba ditimbang sebanyak 100 gram yang direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 1 liter menggunakan metode remaserasi. Metode remaserasi ini dilakukan dengan cara menyimpan dan mengganti pelarut selama 24 jam sekali dan diganti sebanyak tiga kali. Setelah filtrat menjadi satu, diuapkan diatas *waterbath*. Hasil ekstrak kental ditimbang dan dihitung % rendemennya yang dapat dilihat pada tabel 5.1 dan lampiran 4.

Tabel 5.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Mimba

Berat Simplisia	Berat Ekstrak Kental	Rendemen
100 g	5,88 g	5,88 %

5.4 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mimba memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder. Uji skrining fitokimia ini dilakukan terhadap larutan ekstrak etanol daun mimba yang direaksikan dengan beberapa senyawa kimia. Pada tahap ini dilakukan pemeriksaan terhadap empat macam uji senyawa yaitu pemeriksaan flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada (Lampiran 3).

Tabel 5.2 Uji Skrining Fitokimia

Senyawa	Perubahan Reaksi	Hasil
Flavonoid	Hijau	Positif
Alkaloid	Endapan kuning	Positif
Saponin	Busa stabil	Positif
Steroid	Biru kehijauan	Positif

5.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Pengujian dilakukan dengan memipet larutan DPPH yang *discanning* pada panjang gelombang daerah UV-Vis (400-800 nm), panjang gelombang maksimal yang di dapat adalah 515 nm dengan nilai absorbansi maksimal yaitu 0,625. Panjang gelombang maksimal dapat dilihat pada (lampiran 6).

5.5.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi pada ekstrak etanol daun mimba dan larutan kuersetin dilakukan dengan cara memipet 1 mL dari masing-masing larutan dengan konsentrasi yang berbeda dan penambahan larutan DPPH sebanyak 3 mL. Nilai absorbansi DPPH sebagai blanko ekstrak etanol daun mimba yaitu 0,598 dan nilai blanko DPPH untuk larutan kuersetin yaitu 0,624. Pengukuran dilakukan dari menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Waktu optimal di dapat pada menit ke-50, hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada (lampiran 7 dan 8).

Tabel 5.3 Optimasi Waktu Inkubasi

Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi	Sampel	Menit	Konsentrasi	Absorbansi
DPPH			0,624	DPPH			0,598
Kueretin	0	5 ppm	0,548	Ekstrak Etanol Daun Mimba	0	50 ppm	0,427
		10 ppm	0,491			100 ppm	0,372
		15 ppm	0,332			150 ppm	0,370
		20 ppm	0,344			200 ppm	0,363
		25 ppm	0,312			250 ppm	0,333
	10	5 ppm	0,520		10	50 ppm	0,425
		10 ppm	0,425			100 ppm	0,353
		15 ppm	0,319			150 ppm	0,348
		20 ppm	0,331			200 ppm	0,344
		25 ppm	0,306			250 ppm	0,319
		5 ppm	0,365			50 ppm	0,380
		10 ppm	0,343			100 ppm	0,347

	20	15 ppm	0,292		20	150 ppm	0,332
		20 ppm	0,279			200 ppm	0,311
		25 ppm	0,274			250 ppm	0,283
	30	5 ppm	0,356		30	50 ppm	0,357
		10 ppm	0,327			100 ppm	0,336
		15 ppm	0,269			150 ppm	0,334
		20 ppm	0,244			200 ppm	0,296
		25 ppm	0,230			250 ppm	0,281
	40	5 ppm	0,339		40	50 ppm	0,335
		10 ppm	0,315			100 ppm	0,331
		15 ppm	0,262			150 ppm	0,312
		20 ppm	0,238			200 ppm	0,294
		25 ppm	0,225			250 ppm	0,267
	50	5 ppm	0,315		50	50 ppm	0,334
		10 ppm	0,274			100 ppm	0,323
		15 ppm	0,267			150 ppm	0,270
		20 ppm	0,246			200 ppm	0,254
		25 ppm	0,219			250 ppm	0,235
	60	5 ppm	0,271		60	50 ppm	0,330
		10 ppm	0,249			100 ppm	0,326
		15 ppm	0,232			150 ppm	0,273
		20 ppm	0,221			200 ppm	0,248
		25 ppm	0,210			250 ppm	0,226

5.5.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mimba Dan

Kuersetin

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan ekstrak etanol daun mimba dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Nilai absorbansi DPPH sebagai blanko ekstrak etanol daun mimba yaitu 0,618. Kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dari masing-masing konsentrasi, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm yang diinkubasi selama 50 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.4.

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan kuersetin dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Nilai

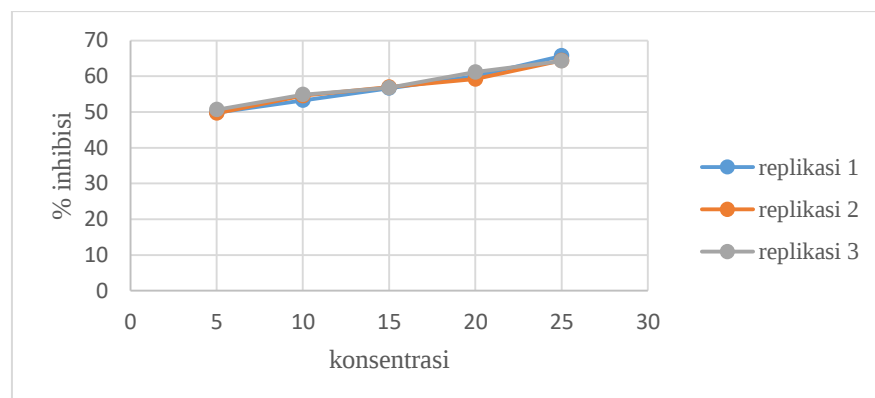
absorbansi DPPH sebagai kuersetin yaitu 0,520. Kemudian replika dari masing-masing konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm yang diinkubasi selama 50 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.4. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali bertujuan untuk mengoptimalkan terjadinya kesalahan dalam menganalisis sampel dan mengetahui pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas.

Tabel 5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin dan Ekstrak Daun Mimba

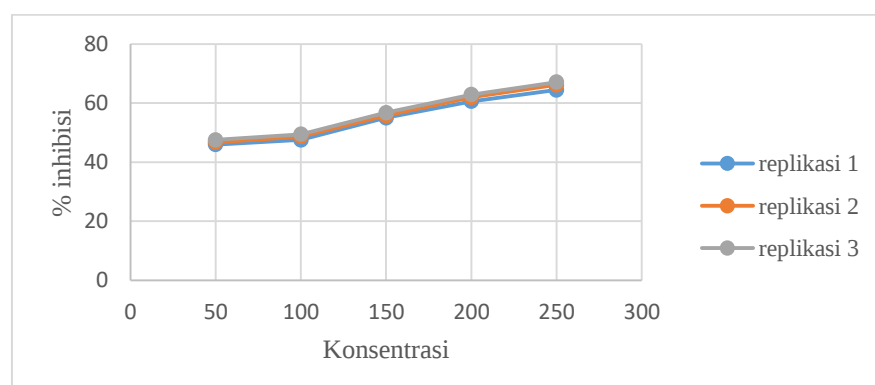
Sampel	Replika	Konsentrasi	Absorb	IC50	$\bar{X} \pm SE$	Kategori
Ekstrak Daun Mimba	1	50 ppm	0,281	103,08 μg/mL	94,37 ± 4,90	Kuat
		100 ppm	0,273			
		150 ppm	0,234			
		200 ppm	0,205			
		250 ppm	0,185			
	2	50 ppm	0,277	93,93 μg/mL		
		100 ppm	0,267			
		150 ppm	0,230			
		200 ppm	0,198			
		250 ppm	0,176			
	3	50 ppm	0,273	86,12 μg/mL		
		100 ppm	0,263			
		150 ppm	0,225			
		200 ppm	0,193			
		250 ppm	0,171			
Kuersetin	1	5 ppm	0,310	5,80 μg/mL	4,78 ± 0,59	Sangat Kuat
		10 ppm	0,289			
		15 ppm	0,268			
		20 ppm	0,247			
		25 ppm	0,212			
	2	5 ppm	0,311	4,81 μg/mL		
		10 ppm	0,281			
		15 ppm	0,266			
		20 ppm	0,252			
		25 ppm	0,220			
	3	5 ppm	0,305	3,74 μg/mL		
		10 ppm	0,279			
		15 ppm	0,267			
		20 ppm	0,240			
		25 ppm	0,221			

Aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang dihitung menggunakan persamaan regresi linear. Semakin kecil nilai IC_{50} pada sampel, maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Begitupun sebaliknya, semakin besar nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin lemah. Aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari perubahan warna sampel setelah ditambahkan larutan DPPH. Semakin larutan sampel berwarna kuning, maka larutan tersebut berpotensi sebagai antioksidan.

Hasil grafik antara konsentrasi (x) dan % inhibisi (y) dapat dilihat di gambar 5.1 dan gambar 5.2. Dari grafik dibawah ini dapat dibuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin naik nilai % inhibisi pada larutan uji.



Gambar 5.1 Grafik Antioksidan Larutan Kuersetin



Gambar 5.2 Grafik Antioksidan Larutan Ekstrak Daun Mimba

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Pengambilan Dan Pengolahan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica*)

Pada penelitian ini tahap pertama yang dilakukan yaitu pembuatan simplisia daun mimba. Daun mimba yang diambil dari kab. Sumenep dipisahkan dari tangkai yang kemudian dicuci menggunakan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali. Daun yang dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar cahaya matahari langsung. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada bahan agar dapat disimpan lebih lama serta mencegah terjadinya proses penjamuran.

Setelah diperoleh simplisia kering, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan simplisia dengan zat pengotor seperti debu dan kerikil. Kemudian dilakukan perubahan bentuk menjadi serbuk simplisia menggunakan blender agar ukuran partikelnya lebih kecil, tujuannya agar memperoleh jumlah ekstrak yang optimal. Semakin kecil ukuran partikel, maka proses ekstraksi semakin efektif. Karena penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia bersentuhan dengan cairan penyari. Namun, simplisia yang terlalu halus memberikan kesulitan pada proses penyarian. Hal ini terjadi karena, pada serbuk yang terlalu halus akan menyebabkan ruang antar sel akan menjadi lebih sempit, sehingga mempersulit masuknya cairan penyari ke dalam serbuk (Anonim, 1986 dalam Subositi, 2014).

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa aktif dari bagian tanaman obat menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi yang digunakan menggunakan metode remaserasi. Metode ini dipilih karena dapat menarik senyawa yang kemungkinan masih tertinggal selama proses maserasi. Keuntungan cara penyarian dengan remaserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama, membutuhkan larutan penyari yang lebih banyak dibanding larutan penyari pada metode maserasi dan hasil penyariannya kurang sempurna. Pada penelitian ini serbuk simplisia daun mimba ditimbang sebanyak 100 gram yang direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 Liter. Alasan penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifatnya yang polar dan dapat mengekstraksi senyawa polar dan non-polar. Remaserasi ini dilakukan sebanyak 3x yang dilakukan selama ± 4 hari.

Ekstrak cair yang didapat diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Proses penguapan dilakukan menggunakan *waterbath* karena, memiliki suhu yang konstan. Keuntungan *waterbath* yaitu efisien dan memiliki daya listrik yang rendah sehingga sangat ekonomis. Secara sederhana, alat ini menggunakan pemanas pada air yang dipanaskan dengan api maupun dengan listrik atau uap dari air.

Rendemen adalah perbandingan antara bobot ekstrak yang diperoleh dengan bobot simplisia awal. Perhitungan nilai rendemen dilakukan dengan membagi berat ekstrak dengan berat simplisia awal (gram) yang hasilnya dalam bentuk persen. Rendemen dikatakan baik jika nilainya $>10\%$ (Amaliah, Sobari and

Mukminah, 2019). Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh keefektifan dalam proses ekstraksi. Menurut Febrina (2015), faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah waktu, suhu, pengadukan dan pelarut. Selain jenis pelarut, ukuran sampel juga mempengaruhi jumlah rendemen. Semakin kecil luas permukaan sampel akan semakin memperluas kontak dan meningkatkan interaksi dengan pelarut (Sineke *et al.*, 2016). Hasil rendemen ekstrak kental daun mimba belum optimal yaitu 5,88% (<10%). Hal tersebut diduga karena kurangnya waktu ekstraksi, pengadukan dan ekstrak kental yang menempel pada dinding cawan.

6.2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*)

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam sampel. Dari hasil pengujian ekstrak daun mimba yaitu terdapat senyawa flavonoid, steroid, alkaloid dan saponin. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis O-glikosil agar menjadi aglikon. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas dua cincin aromatik, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha, 2010). Reduksi dengan magnesium dan HCl pekat menghasilkan warna hijau. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik sehingga menghambat reaksi oksidasi (Supriyanto *et al.*, 2017).

Ketika senyawa steroid ditetesi oleh H_2SO_4 pekat maka anhidra asetat akan bereaksi dengan asam. Sehingga atom C pada anhidra membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus $-\text{OH}$ yang ada pada senyawa steroid sehingga terjadi perubahan warna menjadi biru kehijauan (Latifah, 2015). Steroid merupakan senyawa aktif yang termasuk dalam jenis antioksidan lipofilik. Senyawa ini mampu mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Agustina and Handayani, 2017).

Alkaloid mengandung satu atau lebih senyawa nitrogen pada bagian cincin heterosiklik. Penambahan asam sulfat bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam (Sulistyarini, Sari and Wicaksono, 2019). Hasil positif pada penambahan pereaksi wagner ditandai dengan terbentuknya endapan kuning sampai coklat. Endapan yang terbentuk terjadi karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid sehingga terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Nafisah *et al.*, 2014).

Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Sebagai antioksidan, alkaloid mampu melindungi sel dari toksisitas dan kerusakan genetik akibat oksidan H_2O_2 (Andiriyani, Untari and Wahdaningsih, 2016).

Sedangkan senyawa saponin dilakukan dengan menambahkan air panas dan NaOH . Busa yang ditimbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin polar dan rantai samping polar yang

larut dalam air. Sehingga timbulnya busa dapat bertahan selama ± 15 menit. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) (Supriyanto *et al.*, 2017). Senyawa ini mempunyai efek antioksidan dengan membentuk hidroperoksida sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Kurniati, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti, identifikasi kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun mimba hasilnya sama seperti yang dilakukan oleh Supriyanto *et al.*, 2017 dan Pratama *et al.*, 2015 meskipun penelitian yang dilakukan oleh peneliti tersebut menggunakan pelarut dan konsentrasi yang berbeda. Senyawa alkaloid dan steroid merupakan antioksidan primer yang berfungsi memperlambat laju autooksidasi, dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Sedangkan senyawa flavonoid dan saponin termasuk dalam antioksidan sekunder yang berfungsi mencegah terbentuknya radikal bebas baru. Antioksidan ini berperan sebagai pemberi atom hydrogen yang dapat diberikan secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil (Yunanto *et al.*, 2009 dalam Leksono *et al.*, 2018).

6.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

6.3.1. Aktivitas Antioksidan Larutan Kuersetin

Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang relatif mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Prinsip pengujiannya adalah dengan mereaksikan senyawa

antioksidan dengan senyawa radikal bebas. Sebelum menentukan aktivitas antioksidan, yang pertama dilakukan adalah penentuan panjang gelombang maksimum yang dilakukan dengan mengukur absorbansi senyawa DPPH. Untuk menentukan panjang gelombang optimum, ditentukan dengan nilai absorbansi maksimum yang diperoleh pada panjang gelombang 515 nm dengan nilai absorbansinya yaitu 0,625. Secara teoritis, panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH dalam etanol adalah 515-517 nm (Salamah and Widayarsi, 2015). Pada penentuan optimasi waktu inkubasi menunjukkan bahwa DPPH telah bereaksi secara optimal dengan senyawa uji yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi. Kecepatan waktu sepenuhnya reaksi diindikasikan sebagai salah satu parameter dalam penentuan aktivitas penangkapan radikal (Molyneux, 2004 dalam Patria and Soegihardjo, 2016). Penentuan optimasi waktu dihitung sejak larutan DPPH dicampurkan ke dalam larutan uji yang dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Hasil *operating time* untuk larutan kuersetin optimal pada menit ke-50, begitu juga dengan waktu inkubasi pada larutan ekstrak daun mimba yang optimal pada menit ke-50. Data % inhibisi dengan konsentrasi sampel digunakan untuk menentukan persamaan regresi linear pada masing-masing replikasi larutan uji. Penetapan IC₅₀ dilakukan dengan memasukkan nilai $y=50$ pada persamaan regresi linear.

Setelah optimasi waktu ditentukan, dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan cara mereaksikan larutan DPPH dengan larutan uji pada konsentrasi berbeda yang diinkubasi selama 50 menit menggunakan replikasi

sebanyak 3x. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi, data absorbansi digunakan untuk menghitung nilai persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH (lampiran 8 dan 9). Pada penelitian ini larutan kuersetin digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui bahwa metode yang digunakan benar. Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoproteins (LDL)* dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi. Pada penelitian uji aktivitas kuersetin didapatkan nilai absorbansi senyawa DPPH sebagai blanko adalah 0,618. Data % inhibisi dari perbedaan konsentrasi dimasukkan ke dalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linear untuk penentuan IC_{50} , dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan $y = bx + a$. untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan rumus : $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan nilai IC_{50} yaitu 5,80 $\mu\text{g/mL}$ pada replikasi 1, pada replikasi 2 yaitu 4,81 $\mu\text{g/mL}$ dan 3,74 $\mu\text{g/mL}$ pada replikasi yang ke-3. Ketiga replikasi tersebut, dihitung rata-rata dari nilai IC_{50} yang didapat yaitu 4,78 $\mu\text{g/mL}$. Rentang $IC_{50} = < 50 \mu\text{g/mL}$ merupakan golongan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat daripada sampel. Kuersetin adalah salah satu flavonol terbaik. Kuersetin memiliki struktur cincin dan konfigurasi aglyconnya dari kelompok -OH, menjadikannya salah satu dari flavonoid yang paling ampuh dalam hal kemampuan antioksidan. Hal ini dapat dibuktikan bahwa kuersetin telah menunjukkan kemampuan untuk mencegah

oksidasi dengan menangkap radikal bebas dan ion-ion transisi sehingga kuersetin membantu dalam pencegahan penyakit tertentu seperti kanker, aterosklerosis, dan penyandang kronis (Arifin and Ibrahim, 2018).

Larutan kuersetin yang diuji menunjukkan nilai IC_{50} yang termasuk dalam kategori sangat kuat sehingga dimanfaatkan sebagai antioksidan. Kuersetin digunakan sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Asmorowati and Lindawati, 2019). Hal ini menyebabkan kuersetin mampu menangkap radikal bebas sehingga dapat membantu dalam pencegahan penyakit.

6.3.2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*)

Pada penelitian uji aktivitas daun mimba didapatkan nilai absorbansi senyawa DPPH sebagai blanko adalah 0,520. Data % inhibisi dari perbedaan konsentrasi dimasukkan ke dalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linear untuk penentuan IC_{50} , dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan $y = bx + a$. untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan rumus : $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan nilai IC_{50} yaitu 103,08 $\mu\text{g/mL}$, pada replikasi 2 sebesar 93,93 $\mu\text{g/mL}$ dan 86,12 $\mu\text{g/mL}$ pada replikasi yang ke-3. Ketiga replikasi tersebut, dihitung rata-rata dari nilai IC_{50} yang didapat yaitu 94,38 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Hal ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Li'aini, 2021 bahwa nilai IC_{50} yang di dapat termasuk antioksidan kuat yaitu 51,74 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas antioksidan yang kuat pada daun mimba (*Azadirachta indica*) kemungkinan disebabkan adanya senyawa yang mampu mendonorkan elektron pada radikal DPPH dengan jumlah yang besar. Adanya aktivitas antioksidan pada penelitian ini, kemungkinan besar dipengaruhi oleh adanya golongan senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Wayan *et al.*, 2014) bahwa senyawa golongan flavonoid memiliki peran penting pada aktivitas antioksidan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap radikal bebas yang merusak sel dan jarring (Pandey, Verma and Singh, 2014). Semakin tinggi kandungan flavonoid pada sampel, aktivitas antioksidan akan semakin besar. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan daun mimba dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu, lingkungan, konsentrasi dan perbedaan polaritas pelarut.

Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol. Karena itu, pelarut etanol 96% digunakan oleh peneliti dengan hasil IC_{50} yang di dapat yaitu 94,37 ppm. Etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Kepolaran dari etanol disebabkan adanya gugus $-\text{OH}$ yang bersifat polar, sementara gugus etil

(CH₃CH₂-) merupakan gugus non polar. Rantai karbon yang pendek menyebabkan etanol akan bersifat semi polar (Maulana, Asih and Arsa, 2016).

Sedangkan pada penelitian Supriyanto *et al.*, 2017 nilai IC₅₀ yang terendah menggunakan pelarut metanol konsentrasi 80%. Metanol merupakan suatu senyawa yang memiliki struktur molekul CH₃OH, bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) dan juga bersifat non-polar karena memiliki gugus metil (-CH₃). Walaupun demikian, metanol merupakan senyawa yang bersifat sangat polar dibandingkan etanol karena mempunyai atom C lebih sedikit.

Oleh karena itu, tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak daun mimba dengan pelarut metanol menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun mimba mempunyai kepolaran yang sama dengan metanol, sehingga ekstrak daun mimba dengan pelarut metanol menghasilkan kandungan senyawa flavonoid tertinggi (Supriyanto *et al.*, 2017). Hal ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan pelarut dan konsentrasi yang berbeda dapat mempengaruhi hasil ekstraksi.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa metabolit yang terkandung dalam daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan saponin.
2. Aktivitas antioksidan IC₅₀ dari daun mimba (*Azadirachta indica A.Juss*) memiliki nilai sebesar 94,37 µg/mL yang termasuk dalam antioksidan kuat dan nilai kuersetin sebesar 4,78 µg/mL yang termasuk dalam antioksidan sangat kuat.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka peneliti menyarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Berdasarkan penelitian eksperimen laboratorium ini, ekstrak etanol daun mimba yang diuji memiliki potensi sebagai antioksidan kuat. Namun, perlu dilakukan penelitian antioksidan daun mimba yang diambil dari tempat atau wilayah yang berbeda.
2. Bagi peneliti lain, perlu dilakukan lebih lanjut terhadap bagian lain dari tanaman mimba untuk memperkuat hasil aktivitas antioksidannya sehingga dapat memberikan informasi tentang potensi tanaman mimba.
3. Perlu dilakukan uji aktivitas lain seperti uji antidiabetes, uji antibakteri terhadap ekstrak daun mimba sehingga dapat memberikan informasi terutama kepada masyarakat mengenai potensi daun mimba.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirullah. (2015). *Metode Penelitian Manajemen*. Malang : Bayumedia Publishing.
- Agustina, W. and Handayani, D. (2017) 'Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.)', *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(2), pp. 117–122.
- Amaliah, A., Sobari, E. and Mukminah, N. (2019) 'Rendemen Dan Karakteristik Fisik Ekstrak Oleoresin Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Pelarut Heksan', *Industrial Research Workshop*, 10(1), pp. 273–278.
- Andarina, R. and Djauhari, T. (2017) 'Antioksidan dalam Dermatologi', *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), pp. 39–48.
- Andiriyani, M.M., Untari, E.K. and Wahdaningsih, S. (2016) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehyde Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Pasca Paparan Asap Rokok', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2). Available at: <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i2.189>.
- Arifin, B. and Ibrahim, S. (2018) 'Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid', *Jurnal Zarah*, 6(1), pp. 21–29. Available at: <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>.
- Asif, M. (2012) 'Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Antimicrobial Potential of *Azadirachta indica* Against Pathogenic Bacteria and Fungi', *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4), pp. 78–83.
- Asmorowati, H. and Lindawati, Y. (2019) 'Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), pp. 51–63. Available at: <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>.
- Balafif, R.A.R., Andayani, Y. and Gunawan, R. (2013) 'Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn)', *Chemistry Progress*, 6(2), pp. 56–61.
- Boligon, A.A. (2014) 'Technical Evaluation of Antioxidant Activity', *Medicinal Chemistry*, 4(7), pp. 517–522. Available at: <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000188>.
- Budiarti, A. and Kurnianingrum, D. ayu E. (2015) 'Pengaruh Suhu Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kandungan Vitamin C Dalam Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) Dan Aktivitas Antioksidannya', *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., pp. 134–140.
- Cynthia Hani, R. and Millanda, T. (2016) 'Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia', *Farmaka*, 14(1), pp. 184–190.

- Endarini, L.H. (2016) *Farmakognosi Dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana and Rusydi. (2019) 'Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan', *Jurnal Vokasi*, 3(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.30811/vokasi.v3i1.960>.
- Fatmasari, F.H. (2020) 'Masker Tradisional Berbahan Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A . Juss) dan Lemon untuk Mengatasi Masalah Kulit', 1(2), pp. 34–43.
- Febrianti, D.R., Ariani, N. and Niah, R. (2021) 'Antioksidan Daun Kumpai Mahung (*Eupatorium inulifolium* H.B&K)', *Jurnal Pharmascience*, 8(1), p. 94.
- Handoyo, D. and Pranoto, M.E. (2020) 'Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*)', *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), pp. 45–54. Available at: <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.988>.
- Heliawati, L. (2017) 'Kimia Organik Bahan Alam', *Kimia Organik Bahan Alam* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.52574/syiahkualauniversitypress.298>.
- Hidana, R. and Susilawati (2017) 'Efektivitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Sebagai Ovisida *Aedes aegypti*', *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 17(1), pp. 59–65. Available at: <https://doi.org/10.36465/jkbth.v17i1.190>.
- Ikhrrar, M.S., Yudistira, A. and Wewengkang, D.S. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa* sp. Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)', *Pharmacon*, 8(4), p. 961. Available at: <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29376>.
- Ingggrid, M. and Santoso, H. (2014) 'Ekstraksi Antioksidan Dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)', *Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat*, III(3), p. 43.
- Karta, I. wayan et al. (2017) 'Uji Efektivitas Larvasida Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Larva Lalat *Sarcophaga* Pada Daging Untuk Upakarya Yadnya Di Bali', *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 6(1). Available at: <https://doi.org/10.23887/jst-undiksha.v6i1.9233>.
- Khaira, K. (2010) 'Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan', *STAIN Batusangkar Sumatera Barat*, p. 184.
- Kurniati, R.I. (2013) 'Alkaloid Antioksida Kurniati 2013', *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas-Buah(Premna cordifolia Linn.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)* [Preprint].

- Kusuma, A.B., Rini, T. and Janika, A. (2019) 'Efek Pemberian Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) Terhadap Diameter Hepatosit Tikus (*Rattus Norvegicus*)', *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 21(2), pp. 106–113. Available at: <https://doi.org/10.14710/bioma.21.2.106-113>.
- Latifah (2015) Identifikasi golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Skripsi.
- Leksono, W.B. et al. (2018) 'Jenis Pelarut Metanol Dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut *Gelidium* sp. Dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta', *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), p. 9. Available at: <https://doi.org/10.14710/jkt.v21i1.2236>.
- Li'aini, A.S., Wibawa, I.P.A.H. and Lugrayasa, I.N. (2021) 'Karakterisasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) dari Desa Jagaraga, Kecamatan Sawan, Kabupaten Buleleng, Bali', *Buletin Plasma Nutrafah*, 27(1), p. 51. Available at: <https://doi.org/10.21082/blpn.v27n1.2021.p51-56>.
- Malangngi, L.P., Sangi, M.S. and Paendong, J.J.E. (2012) 'Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)', 1(1), pp. 5–10.
- Martiningsih, N.W. et al. (2016) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode DPPH', *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 3(3), pp. 332–338.
- Maulana, E.A., Asih, I.A.R.A. and Arsa, M. (2016) 'Isolasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn)', *Jurnal Kimia*, 1(ISSN 1907-9850), pp. 161–168. Available at: <https://doi.org/10.24843/jchem.2016.v10.i01.p22>.
- Midah, Z., Fajriansyah, Makmun, A. and Rasfahyana. (2021) 'Hubungan Obesitas dan Stress Oksidatif', *UMI Medical Journal*, 6(1), pp. 62–69. Available at: <https://doi.org/10.33096/umj.v6i1.140>.
- Mulyadi, M. (2012) 'Riset Desain Dalam Metodologi Penelitian', *Studi Komunikasi Dan Media*, 16(1), pp. 71–80.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno and Hidayati, N. (2014) 'Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*)', *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, (September), pp. 279–286. Available at: <http://tarmiziblog>.
- Nahak, G. and Sahu, R.K. (2011) 'Evaluation of antioxidant activity of flower and seed oil of *Azadirachta indica* A. juss', *Journal of Applied and Natural Science*, 3(1), pp. 78–81. Available at: <https://doi.org/10.31018/jans.v3i1.158>.

- Neldawati, Ratnawulan and Gusnedi (2013) 'Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat', *Pillar of Physics*, 2, pp. 76–83.
- Palupi, D., Kusdiyantini, E., Rahadian, R. and Prianto, A.H. (2016) 'Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Minyak Biji Mimba (*Azadirachta Indica*, A. Juss)', *Jurnal Akademika Biologi*, 5(3), pp. 23–28.
- Pandey, G., Verma, K. and Singh, M. (2014) '*Azadirachta indica* (Mimba) Ilmu Akademik', *Jurnal Internasional Farmasi dan Ilmu Farmasi*, 6(2), pp. 444–447.
- Patria, W.D. and Soegihardjo, C.J. (2016) 'Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) Yang Tumbuh Di Pohon Kepel (*Stelechocarpus burahol*) (Bl)', *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 15(2), pp. 1–23.
- Pratama, Y., Sarjono, P.R. and Mulyani, N.S. (2015) 'Skrining Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Berfungsi sebagai Antidiabetes dari Daun Mimba (*Azadirachta Indica*)', *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18(2), pp. 73–78. Available at: <https://doi.org/10.14710/jksa.18.2.73-78>.
- Salamah, N. and Widayarsi, E. (2015) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil', *Pharmaciana*, 5(1), pp. 25–34. Available at: <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>.
- Sari, A.N. (2015) 'Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kuli', *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*, 1(1), pp. 63–68. Available at: www.jurnal.ar-raniry.com/index.php/elkawanie.
- Sari, A.N. (2016) 'Berbagai Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami', *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*, 2(2), p. 203. Available at: <https://doi.org/10.22373/ekw.v2i2.2695>.
- Sastrawan, I.N., Sangi, M. and Kamu, V. (2013) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH', *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), p. 110. Available at: <https://doi.org/10.35799/jis.13.2.2013.3054>.
- Septiana, E. and Simanjuntak, P. (2017) 'Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Ekstrak Etanol Daun Dan Kulit Batang Bintangtur (*Calophyllum rigidum* Miq.), *Agustus*, 10(1), p. 10.
- Suarsa, I.W. (1933) 'Spektroskopie', *Grundlagen der Astrophysik*, pp. 214–298. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-662-34555-9_3.

- Subositi, A.P.D. (2014) 'Analisis Ukuran Partikel Bahan Penyusun Ramuan Jamu Dan Volume Air Penyari Terhadap Mutu Ekstrak Yang Dihasilkan', *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, pp. 111–115.
- Sulistiyarini, I., Sari, D.A. and Wicaksono, T.A. (2019) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*)', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 56–62.
- Supriyanto, Simon, B.W., Rifa'i, M. and Yunianta. (2017) 'Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* juss)', *Prosding Snatif*, 4, pp. 523–529.
- Susmitha, S., Vidyamol, K.K., Ranganayaki, P. and Vijayaragawan, R. (2013) 'Phytochemical extraction and antimicrobial properties of *Azadirachta indica* (neem)', *Global Journal of Pharmacology*, 7(3), pp. 316–320. Available at: <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2013.7.3.1107>.
- Wayan, N., Puspita, N.M., Swantara, I.M.D., Asih, I.A.R.S., Rita, W.S. (2014) 'Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma', *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 2, pp. 7–16.
- Wayan Seriasih (2020) 'Tinjauan Daun Mimba (Intaran) Dari Sisi Mitologi dan Usadha Bali', *Jurnal IKA*, 18(1), p. Hal 2.
- Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68.
- Wiendarlina, I.Y. and Sukaesih, R. (2019) 'Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) Dalam Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih Dan Korelasinya Dengan Kadar Fenol Dan Vitamin C', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(1), pp. 315–324. Available at: <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i1.464>.
- Yanuartono, Purnamaningsih, H., Nururrozi, A. and Indarjulianto, S. (2017) 'Saponin: Dampak terhadap Ternak (Ulasan)', *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 6(2), pp. 79–90. Available at: <https://doi.org/10.33230/jps.6.2.2017.5083>.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Mimba

	KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI POLITEKNIK NEGERI JEMBER UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http://www.Polije.ac.id
Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0	

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 059/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 850/IKES.UDS/U/III/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Yendy Laily Pratiwi
NIM : 18040102
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Dialypetaleae; Ordo: Rutales; Famili: Meliaceae; Genus: Azadirachta; Spesies: Azadirachta indica, A. juss

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 11 April 2022
Ka. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu
Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Hasil Pengambilan dan Pengolahan Ekstrak Etanol Daun Mimba



Pengambilan dan sortir basah daun mimba



Pengeringan dan sortasi kering daun mimba



Serbuk simplisia daun mimba



Hasil remaserasi



Pengentalan ekstrak daun mimba



Hasil ekstrak daun mimba

Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Mimba

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\ \% \text{ rendemen} &= \frac{5,88 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 5,88 \% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Mimba dan Larutan Kuersetin

1. Perhitungan larutan induk ekstrak daun mimba (500 ppm)

$$= \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ppm}$$

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

$$\begin{aligned} 50 \text{ ppm} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ &= \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ &= \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} \\ &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 150 \text{ ppm} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 = 150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ &= \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} \\ &= 3 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 200 \text{ ppm} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ &= \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} \\ &= 4 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 250 \text{ ppm} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 = 250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ &= \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}} \\ &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$



Larutan Ekstrak Etanol Daun Mimba

2. Perhitungan larutan induk kuersetin (100 ppm)

$$= \frac{5 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ppm}$$

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

$$5 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

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

$$= 0,25 \text{ mL}$$

$$10 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

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

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

$$15 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times V_1 = 15 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$= \frac{15 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 0,75 \text{ mL}$$

$$20 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

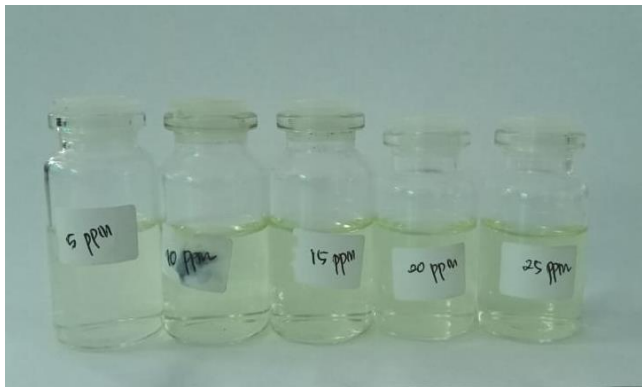
$$= \frac{20 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 1 \text{ mL}$$

$$25 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

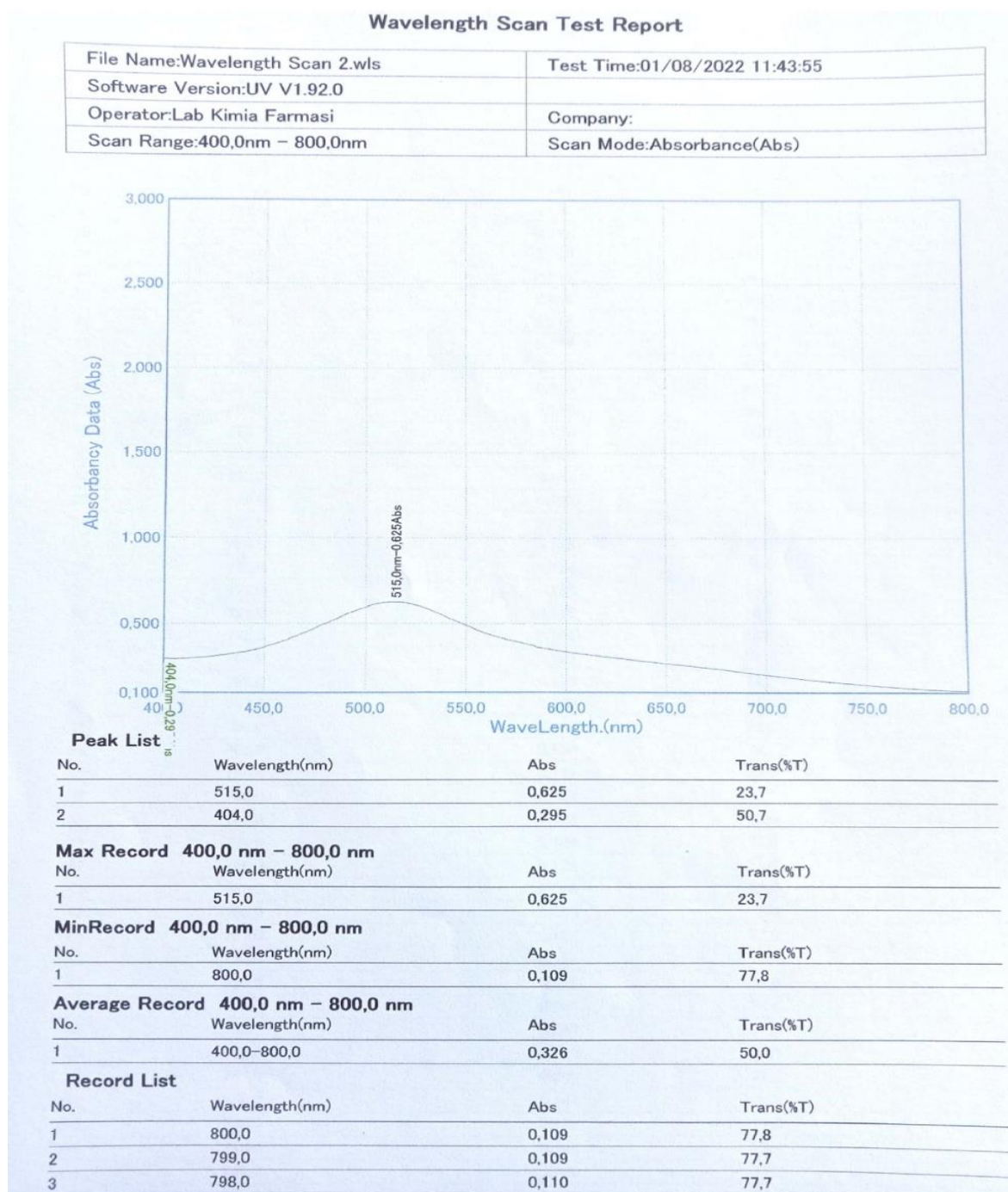
$$= \frac{25 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$= 1,25 \text{ mL}$$



Larutan Kuersetin

Lampiran 6. Panjang Gelombang Larutan DPPH 50 ppm



Lampiran 7. Data *Operating Time* Larutan Kuersetin 100 ppm

Photometry Test Report					
File Name:optimisasi inkubasi.bas				Test Time:	
Software Version:UV V1.92.0					
Operator:Lab Kimia Farmasi				Company:	
Test Record List.					
No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,624	23,7	05/08/2022 8:48:39	blanko
2	515,0	0,548	28,3	05/08/2022 8:50:07	5 menit 0
3	515,0	0,491	32,3	05/08/2022 8:50:43	10
4	515,0	0,332	46,5	05/08/2022 8:52:39	15
5	515,0	0,344	45,3	05/08/2022 8:53:25	20
6	515,0	0,312	48,7	05/08/2022 8:54:10	25
7	515,0	0,520	30,2	05/08/2022 9:00:00	5 menit 10
8	515,0	0,425	37,6	05/08/2022 9:01:21	10
9	515,0	0,319	47,9	05/08/2022 9:01:50	15
10	515,0	0,331	46,7	05/08/2022 9:02:25	20
11	515,0	0,306	49,5	05/08/2022 9:03:04	25
12	515,0	0,365	43,1	05/08/2022 9:10:28	5 menit 20
13	515,0	0,343	45,4	05/08/2022 9:10:53	10
14	515,0	0,292	51,1	05/08/2022 9:11:34	15
15	515,0	0,279	52,7	05/08/2022 9:12:44	20
16	515,0	0,274	53,2	05/08/2022 9:15:12	25
17	515,0	0,356	44,0	05/08/2022 9:21:19	5 menit 30
18	515,0	0,327	47,1	05/08/2022 9:22:18	10
19	515,0	0,269	53,8	05/08/2022 9:23:08	15
20	515,0	0,244	57,0	05/08/2022 9:25:46	20
21	515,0	0,230	58,9	05/08/2022 9:27:13	25
22	515,0	0,339	45,8	05/08/2022 9:30:23	5 menit 40
23	515,0	0,315	48,4	05/08/2022 9:31:12	10
24	515,0	0,262	54,7	05/08/2022 9:32:24	15
25	515,0	0,238	57,8	05/08/2022 9:32:55	20
26	515,0	0,225	59,6	05/08/2022 9:39:36	25
27	515,0	0,315	48,4	05/08/2022 9:41:02	5 menit 50
28	515,0	0,274	53,2	05/08/2022 9:42:09	10
29	515,0	0,267	54,0	05/08/2022 9:43:11	15
30	515,0	0,246	56,8	05/08/2022 9:44:39	20
31	515,0	0,219	60,4	05/08/2022 9:45:32	25
32	515,0	0,271	53,6	05/08/2022 9:49:46	5 menit60
33	515,0	0,249	56,4	05/08/2022 9:51:17	10
34	515,0	0,232	58,6	05/08/2022 9:52:47	15
35	515,0	0,221	60,1	05/08/2022 9:54:58	20
36	515,0	0,210	61,7	05/08/2022 9:55:17	25

Lampiran 8. Data *Operating Time* Larutan Ekstrak Daun Mimba 500 ppm

Photometry Test Report

File Name:Photometry inkubasi sampel.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,598	25,2	05/08/2022 11:38:55	blanko
2	515,0	0,427	37,5	05/08/2022 11:40:53	50 menit 0
3	515,0	0,372	42,5	05/08/2022 11:43:49	100
4	515,0	0,370	42,6	05/08/2022 11:45:09	150
5	515,0	0,363	43,4	05/08/2022 11:45:37	200
6	515,0	0,333	46,5	05/08/2022 11:46:54	250
7	515,0	0,425	37,6	05/08/2022 11:52:54	50 menit10
8	515,0	0,353	44,4	05/08/2022 11:54:18	100
9	515,0	0,348	44,9	05/08/2022 11:55:03	150
10	515,0	0,344	45,3	05/08/2022 11:56:13	200
11	515,0	0,319	48,0	05/08/2022 12:00:03	250
12	515,0	0,380	41,7	05/08/2022 12:01:17	50menit 20
13	515,0	0,347	45,0	05/08/2022 12:01:41	100
14	515,0	0,332	46,5	05/08/2022 12:02:16	150
15	515,0	0,311	48,8	05/08/2022 12:03:11	200
16	515,0	0,283	52,1	05/08/2022 12:03:56	250
17	515,0	0,357	44,0	05/08/2022 12:11:34	50 menit30
18	515,0	0,336	46,2	05/08/2022 12:11:55	100
19	515,0	0,334	46,3	05/08/2022 12:12:43	150
20	515,0	0,296	50,5	05/08/2022 12:14:14	200
21	515,0	0,281	52,4	05/08/2022 12:15:34	250
22	515,0	0,355	44,1	05/08/2022 12:21:49	50 menit 40
23	515,0	0,331	46,7	05/08/2022 12:22:41	100
24	515,0	0,312	48,8	05/08/2022 12:24:00	150
25	515,0	0,294	50,8	05/08/2022 12:24:35	200
26	515,0	0,267	54,1	05/08/2022 12:25:18	250
27	515,0	0,334	46,4	05/08/2022 12:32:26	50 menit 50
28	515,0	0,323	47,5	05/08/2022 12:33:05	100
29	515,0	0,270	53,7	05/08/2022 12:34:08	150
30	515,0	0,254	55,8	05/08/2022 12:37:54	200
31	515,0	0,235	58,2	05/08/2022 12:41:54	250
32	515,0	0,330	46,8	05/08/2022 12:43:32	50 menit 60
33	515,0	0,326	47,3	05/08/2022 12:44:58	100
34	515,0	0,273	53,4	05/08/2022 12:46:08	150
35	515,0	0,248	56,5	05/08/2022 12:46:53	200
36	515,0	0,226	59,4	05/08/2022 12:48:01	250

Lampiran 9. Data Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Photometry Test Report

File Name:uji kuersetin.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,618	24,1	05/08/2022 10:28:05	blanko
2	515,0	0,310	49,0	05/08/2022 10:34:06	5 rep 1
3	515,0	0,311	48,9	05/08/2022 10:35:31	5 rep 2
4	515,0	0,305	49,6	05/08/2022 10:36:11	5 rep 3
5	515,0	0,289	51,4	05/08/2022 10:37:38	10 rep 1
6	515,0	0,281	52,4	05/08/2022 10:39:32	10 rep 2
7	515,0	0,279	52,7	05/08/2022 10:39:58	10 rep 3
8	515,0	0,268	53,9	05/08/2022 10:48:28	15 rep 1
9	515,0	0,266	54,2	05/08/2022 10:49:42	15 rep 2
10	515,0	0,267	54,1	05/08/2022 10:50:03	15 rep 3
11	515,0	0,247	56,6	05/08/2022 10:51:47	20 rep 1
12	515,0	0,252	56,0	05/08/2022 10:56:55	20 rep 2
13	515,0	0,240	57,5	05/08/2022 11:01:50	20 rep 3
14	515,0	0,212	61,3	05/08/2022 11:03:52	25 rep 1
15	515,0	0,220	60,2	05/08/2022 11:04:14	25 rep 2
16	515,0	0,221	60,1	05/08/2022 11:05:00	25 rep 3

Lampiran 10. Grafik dan Perhitungan nilai IC₅₀ Kuersetin

▪ % inhibisi replikasi 1

$$5 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,310)}{0,618} \times 100\% = 49,838 \%$$

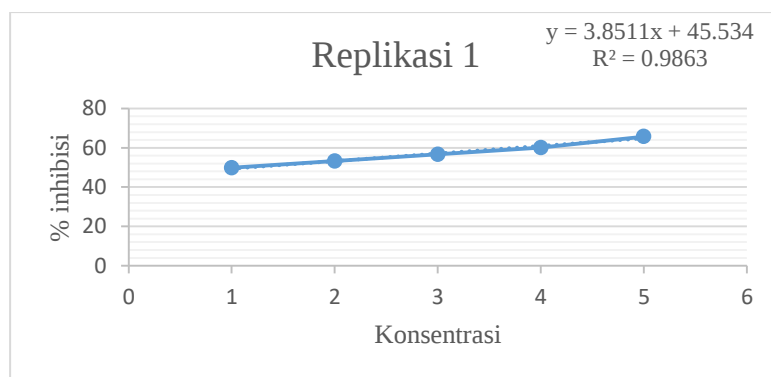
$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,289)}{0,618} \times 100\% = 53,236 \%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,268)}{0,618} \times 100\% = 56,634 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,247)}{0,618} \times 100\% = 60,032 \%$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,212)}{0,618} \times 100\% = 65,696 \%$$

Replikasi 1				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
5 ppm	0.618	0.31	49.8381877	5,80
10 ppm	0.618	0.289	53.23624595	
15 ppm	0.618	0.268	56.63430421	
20 ppm	0.618	0.247	60.03236246	
25 ppm	0.618	0.212	65.69579288	



$$a = 45,534$$

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

$$b = 3,851$$

$$y = 3,851x + 45,534$$

$$r = 0,9863$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 3,851x + 45,534$$

$$x = \frac{(50-45,534)}{3,851} = 5,80 \text{ ppm}$$

▪ % inhibisi replikasi 2

$$5 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,311)}{0,618} \times 100\% = 49,676 \%$$

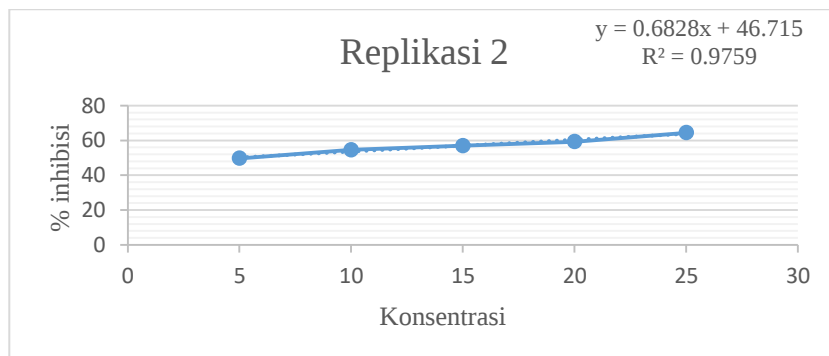
$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,281)}{0,618} \times 100\% = 54,531 \%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,266)}{0,618} \times 100\% = 56,958 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,252)}{0,618} \times 100\% = 59,223 \%$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,220)}{0,618} \times 100\% = 64,401 \%$$

Replikasi 2				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
5 ppm	0.618	0.311	49.6763754	4,81
10 ppm	0.618	0.281	54.53074434	
15 ppm	0.618	0.266	56.9579288	
20 ppm	0.618	0.252	59.22330097	
25 ppm	0.618	0.22	64.4012945	



$$a = 46,715$$

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

$$b = 0,683$$

$$y = 0,683x + 46,715$$

$$r = 0,9759$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 0,683x + 46,715$$

$$x = \frac{(50-46,715)}{0,683} = 4,81 \text{ ppm}$$

▪ % inhibisi replikasi 3

$$5 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,305)}{0,618} \times 100\% = 50,647 \%$$

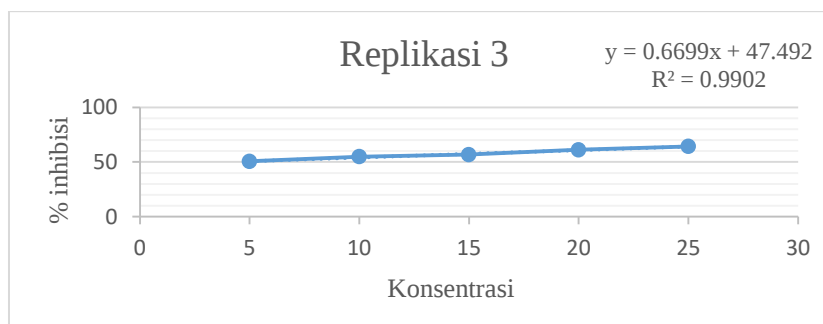
$$10 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,279)}{0,618} \times 100\% = 54,854 \%$$

$$15 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,267)}{0,618} \times 100\% = 56,796 \%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,240)}{0,618} \times 100\% = 61,165 \%$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{(0,618-0,221)}{0,618} \times 100\% = 64,239 \%$$

Replikasi 3				
Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC50
5 ppm	0.618	0.305	50.64724919	3,74
10 ppm	0.618	0.279	54.85436893	
15 ppm	0.618	0.267	56.7961165	
20 ppm	0.618	0.24	61.16504854	
25 ppm	0.618	0.221	64.2394822	



$$a = 47,492$$

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

$$b = 0,670$$

$$y = 0,670x + 47,492$$

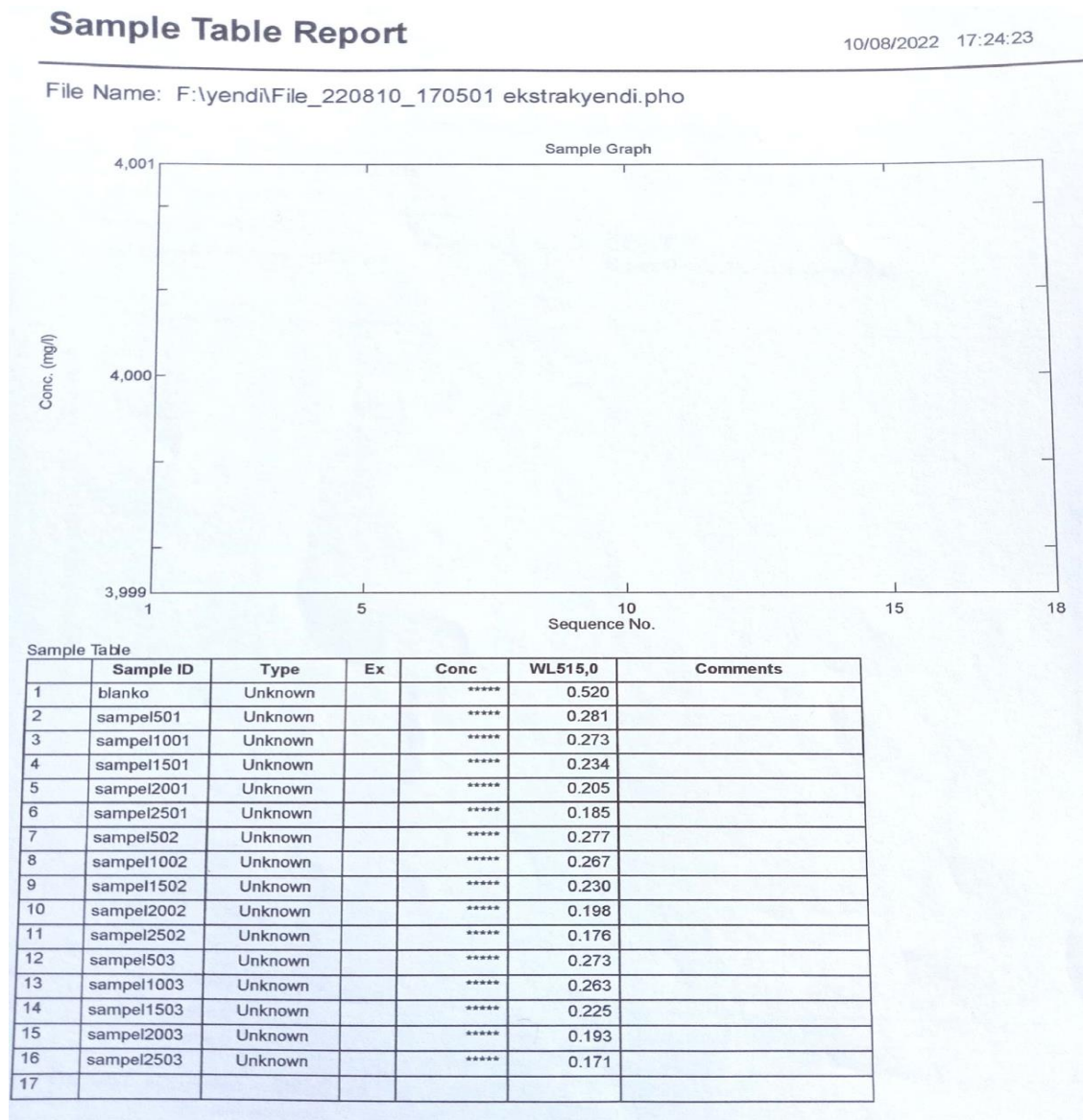
$$r = 0,9902$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 0,670x + 47,492$$

$$x = \frac{(50-47,492)}{0,670} = 3,74 \text{ ppm}$$

Lampiran 11. Data Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba



Lampiran 12. Grafik dan Perhitungan Nilai IC50 Ekstrak Daun Mimba

▪ % inhibisi replikasi 1

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,520 - 0,281)}{0,520} \times 100\% = 45,962 \%$$

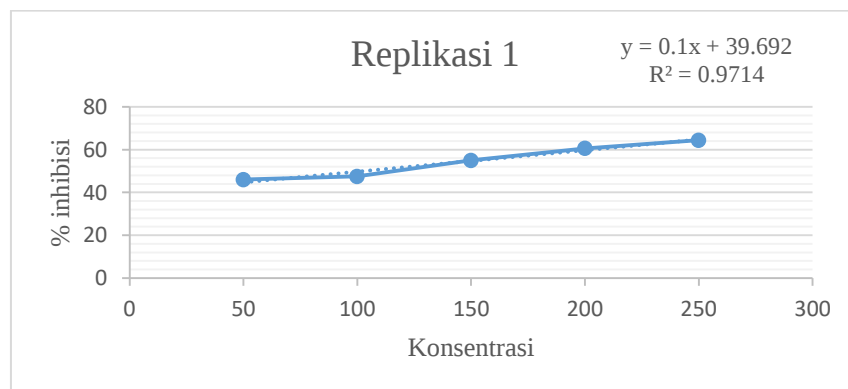
$$100 \text{ ppm} = \frac{(0,520 - 0,273)}{0,520} \times 100\% = 47,5 \%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,234)}{0,520} \times 100\% = 55 \%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,205)}{0,520} \times 100\% = 60,577 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,185)}{0,520} \times 100\% = 64,423 \%$$

Replikasi 1				
Konsentrasi	Abs. Blanko	Abs. Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0.52	0.281	45.96153846	103,08
100	0.52	0.273	47.5	
150	0.52	0.234	55	
200	0.52	0.205	60.57692308	
250	0.52	0.185	64.42307692	



$$a = 39,692$$

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

$$b = 0,1$$

$$y = 0,1x + 39,692$$

$$r = 0,9714$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 0,1x + 39,692$$

$$x = \frac{(50-39,692)}{0,1} = 103,08 \text{ ppm}$$

▪ % inhibisi replikasi 2

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,277)}{0,520} \times 100\% = 46,731 \%$$

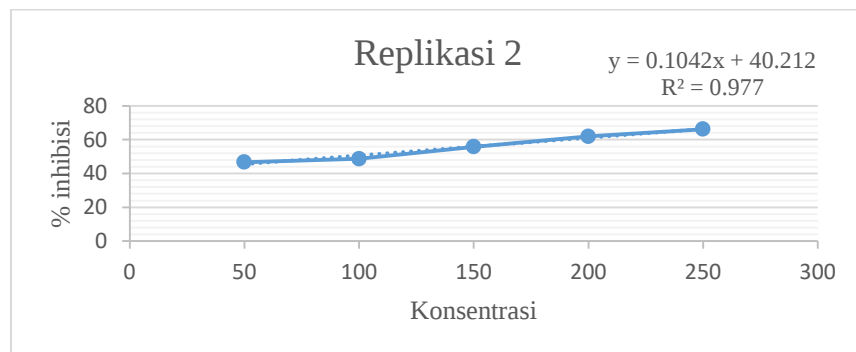
$$100 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,267)}{0,520} \times 100\% = 48,654 \%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,230)}{0,520} \times 100\% = 55,769 \%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,198)}{0,520} \times 100\% = 61,923 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,176)}{0,520} \times 100\% = 66,154 \%$$

Replikasi 2				
Konsentrasi	Abs. Blanko	Abs. Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0.52	0.277	46.73076923	93,93
100	0.52	0.267	48.65384615	
150	0.52	0.23	55.76923077	
200	0.52	0.198	61.92307692	
250	0.52	0.176	66.15384615	



$$a = 40,212$$

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

$$b = 0,1042$$

$$y = 0,1042x + 40,212$$

$$r = 0,977$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 0,1042x + 40,212$$

$$x = \frac{(50-40,212)}{0,1042} = 93,93 \text{ ppm}$$

▪ **% inhibisi replikasi 3**

$$50 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,273)}{0,520} \times 100\% = 47,5 \%$$

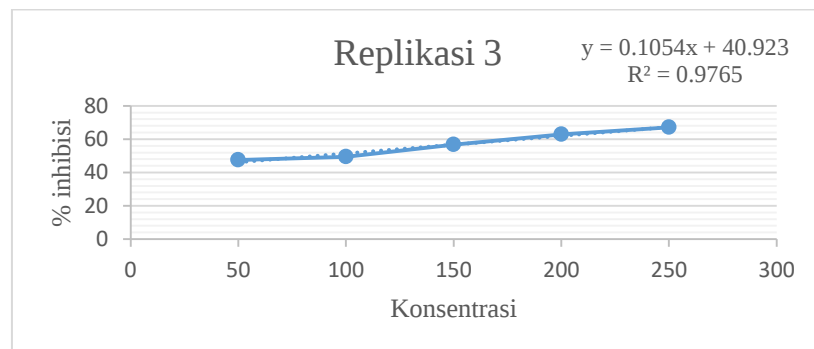
$$100 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,263)}{0,520} \times 100\% = 49,423 \%$$

$$150 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,225)}{0,520} \times 100\% = 56,731 \%$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,193)}{0,520} \times 100\% = 62,885 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{(0,520-0,171)}{0,520} \times 100\% = 67,115 \%$$

Replikasi 3				
Konsentrasi	Abs. Blanko	Abs. Sampel	% Inhibisi	IC50
50	0.52	0.273	47.5	86,12
100	0.52	0.263	49.42307692	
150	0.52	0.225	56.73076923	
200	0.52	0.193	62.88461538	
250	0.52	0.171	67.11538462	



$$a = 40,923$$

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

$$b = 0,1054$$

$$y = 0,1054x + 40,923$$

$$r = 0,9765$$

$$\text{IC50} = \text{jika nilai } y = 50$$

$$50 = 0,1054x + 40,923$$

$$x = \frac{(50-40,923)}{0,1054} = 86,12 \text{ ppm}$$