

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) DENGAN METODE DPPH
(1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)**

SKRIPSI



**Oleh :
Aldi Guswanto
NIM. 18040007**

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

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) DENGAN METODE
DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)**

SKRIPSI



**Oleh :
Aldi Guswanto
NIM. 18040007**

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

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.

Jember, 27 September, 2022

Pembimbing I

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized initial 'L' followed by several loops and a long horizontal stroke.

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

Pembimbing II

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'S' followed by a horizontal line and a small flourish.

Apt. Sholihatil Hidayati, M. Farm
NIDN. 0509088601

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir Yang Berjudul “ Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

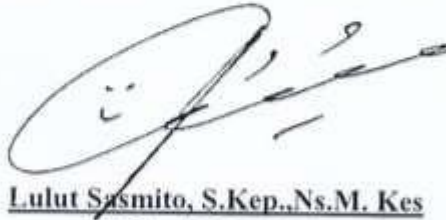
Hari : Rabu
Tanggal : 28 September 2022
Tempat : Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



Susilawati, M.Kes
NIDN.4003127401

Penguji II



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

penguji III



apt. Sholihatil Hidavati, M. Farm
NIDN. 0509088601

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Dr. Soebandi



Helia Melva Turisina, S. Kep., Ns., M. Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Aldi Guswanto

NIM : 18040007

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya seni sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau hasil orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 27 September 2022

Yang menyatakan



(Aldi Guswanto)

SKRIPSI

PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)

Oleh:

Aldi Guswanto

NIM. 18040007

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Lulut Sasmito, S.Kep.,Ns.M. Kes

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

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan tugas akhir.

Karya ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Bapak Sutarlan dan Ibu Sudarmi yang telah memberikan segenap kasih sayang, doa dan dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan studi dan tugas akhir ini dengan tepat waktu.
2. Sahabat Saya fajar alif kurnia bahari yang senantiasa memberi support, motivasi, tempat berdiskusi dan berkeluh kesah, serta bantuan ide selama dibangku perkuliahan dan penyusunan tugas akhir ini.
3. Bapak Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes. Ibu apt. Sholihatil Hidayati, M. Fram dan Ibu Susilawati. M.Kes yang senantiasa memberi bimbingan, pengarahan, nasihat, saran, dan dukungan hingga mempermudah saya selama mengerjakan penyusunan tugas akhir ini.
4. Almamater tercinta Universitas dr.Soebandi Jember.

MOTTO

“Barang siapa keluar untuk mencari sebuah ilmu, maka ia akan berada di jalan Allah hingga ia kembali.”

(HR Tirmidzi)

*Pengetahuan yang baik adalah yang memberikan manfaat, bukan hanya diingat.”

(Imam Syafi'i)

ABSTRAK

Guswanto, Aldi* Sasmito, Lulut** Hidayati, Sholihatil*** 2022 **Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berasal dari famili Oxalidaceae merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang digunakan secara luas oleh masyarakat sebagai bahan masakan maupun obat. Tumbuhan Ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh dengan metode 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil. **Metode :** Serbuk simplisia daun belimbing wuluh diekstraksi dan diskriming, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan perbandingan kuersetin. Parameter yang digunakan dalam metode ini adalah nilai IC_{50} yang ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan % inhibisi **Hasil Penelitian :** Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menunjukkan adanya metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik. Hasil Pengujian aktivitas antioksidan dan dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 145,437 $\mu\text{g/mL}$ dan pembanding kuersetin sebesar 22,357 $\mu\text{g/mL}$ **Analisis:** Menggunakan uji (*Shapiro-Wilk*) dengan aplikasi SPSS, pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan hasil sig adalah $0,082 > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa antara data kuersetin dan ekstrak berdistribusi normal dan independen sampel test nilai sig. sebesar $0,000 < 0,05$ maka untuk H_0 ditolak dan untuk H_1 diterima **Diskusi:** Mahasiswa mampu melakukan pengujian antioksidan pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang dapat merendam 50% dari radikal bebas.

Kata Kunci : Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), DPPH, IC_{50}

*peneliti

**pembimbing 1

***pembimbing 2

ABSTRACT

Guswanto, Aldi* Sasmito, Lulut** Hidayati, Sholihatil*** 2022 **Antioxidant Activity Testing of Wuluh Starfruit Leaf Methanol Extract (*Averrhoa bilimbi* L.) With DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil).** Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember

Introduction: Belimbing Wuluh leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) from the Oxalidaceae family is one of the plants in Indonesia that is widely used by the community as a cooking ingredient and medicine. This plant contains secondary metabolites that have the potential as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of the methanol extract of starfruit leaves using the method *1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*. **Methods :** The simplicia powder of Belimbing Wuluh leaves was extracted and screened, the extraction was carried out using methanol as a solvent by maceration method. Antioxidant activity testing was carried out using the dpph method with a ratio of quercetin. The parameter used in this method is the IC₅₀ value determined from the linear regression equation between concentration and % inhibition **Research Results:** The results of phytochemical screening of methanol extract of starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) showed the presence of secondary metabolites such as flavonoids, tannins, saponins, and phenolics. The results of the antioxidant activity test and from the methanol extract of Belimbing Wuluh leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) showed an IC₅₀ value of 145,437 µg/mL and a comparison of quercetin 22,357 µg/mL **Analysis:** Using the test (shapiro-wilk) with the SPSS application, the testing of antioxidant activity carried out with sig results is 0.082 > 0.05, it can be concluded that between quercetin data and extracts normally distributed and independent sample test samples. of 0,000 < 0.05 then for H₀ is rejected and for H₁ received **Discussion:** Students are able to do antioxidant testing on the methanol extract of star fruit leaves which can soak 50% of free radicals.

keywords : Belimbing Wuluh Leaves (*Averrhoa bilimbi* L.), DPPH, IC₅₀

*researcher

**supervisor 1

**supervisor 2

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, kasih dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, dengan judul *“Penguji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh Dengan Metode Dpph (1,1 diphenyl-2-Picryl Hidrazil)”*.

Tujuan penyusunan skripsi ini yaitu untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi Sarjana Farmasi. Penyusunannya dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM selaku rektor Universitas dr. Soebandi Jember;
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi;
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember;
4. Lulut Sasmito, S.Kep., Ns. M.Kes selaku pembimbing I dan apt. Sholihatil Hidayati, M. Fram selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, ilmu, dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini
5. Susilawati, M.Kes Salah dosen ketua penguji tugas akhir yang telah memberikan arahan dan masukan

6. Kepada laboratorium Universitas Dr Soebandi Jember dan staf yang telah memberikan izin kepada peneliti untuk melakukan penelitian
7. Kepada kedua orang tua dan keluarga yang telah berusaha memberikan semangat dan dukungan selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi
8. Serta semua pihak yang telah memberikan dukungan yang tidak dapat peneliti sebutkan hingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik
9. At last terimakasih kepada diri sendiri karena sudah kuat, sudah berjuang sejauh ini, terimakasih sudah bertahan sejauh ini, perlu diingat ini bukan perjalanan terakhir dalam kehidupanmu tetapi merupakan salah satu step awal

Penulis tentu menyadari bahwa penyusunan Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat, akhir kata penulis mengucapkan terimakasih.

Jember, 27 September, 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	I
HALAMAN JUDUL	II
HALAMAN PERSETUJUAN	III
HALAMAN PENGESAHAN.....	IV
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	V
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	VI
PERSEMBAHAN	VII
MOTTO	VIII
ABSTRAK.....	IX
<i>ABSTRAK</i>	X
KATA PENGANTAR.....	XI
DAFTAR ISI	XIII
DAFTAR TABEL	XVII
DAFTAR GAMBAR.....	XVIII
DAFTAR LAMPIRAN.....	XIX
DAFTAR SINGKATAN.....	XX
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Rumus Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5

1.4. Manfaat Penelitian	5
1.4.1. Bagi Ilmu Kefarmasian	5
1.4.2. Bagi Farmasia Atau Tenaga Kesehatan.....	5
1.4.3. Bagi Institusi Pendidikan Atau Pelayanan Kesehatan.....	6
1.4.4. Bagi Peneliti	6
1.5. Keaslian Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Daun Blimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L.</i>)	8
2.1.1. Morfologi Daun Blimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L.</i>)	8
2.1.2. Klarifikasi Daun Blimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L.</i>).....	9
2.1.3. Kandungan Kimia Daun Blimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L.</i>)	10
2.1.4. Manfaat Blimbing Wuluh	10
2.1.5. Fitokimia Daun Blimbing Wuluh	11
2.2 Radikal Bebas	11
2.1.6. Definisi.....	11
2.1.7. Sumber Radikal Bebas.....	12
2.1.8. Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas	13
2.2. Antioksidan.....	13
2.2.1. Definisi.....	13
2.2.2. Macam-Macam Antioksidan.....	14
2.2.3. Mekanisme Antioksidan	15
2.2.4. Sumber Antioksidan.....	15
2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan	16
2.3.1. 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil (DPPH).....	17

2.3.2. Ferric Reducing Antioxidant Power	17
2.3.3. 2,2-Azinobis 3-Ethyl Benzothiazoline 6- Sulfonic Acid	18
2.3.4. Deoksiribosa	18
2.4. 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil (DPPH)	19
2.4.1. Definisi	19
2.4.2. Mekanisme	19
2.4.3. Tingkat Kekuatan	20
2.5. Metode Ekstraksi	21
2.5.1. Definisi	21
2.5.2. Macam-Macam Ekstraksi	22
2.5.3. Pelarut	24
2.6. Instrumen Spektrofotometer UV-Vis	24
2.6.1. Definisi	24
2.6.2. Jenis Spektrofotometer	25
2.6.3. Sumber Radiasi	27
2.6.4. Syarat Pengukuran	28
2.6.5. Pengujian Secara In Vivo	28
BAB 3 KERANGKA KONSEP	30
3.1. Kerangka Konsep	30
3.2. Hipotesis	31
BAB 4 METODE PENELITIAN	33
4.1. Desain Penelitian	33
4.2. Populasi Dan Sampel	33

4.2.1. Populasi	35
4.2.2. Sampel	33
4.3. Tempat Dan Waktu Penelitian	33
4.4. Variabel Penelitian	34
4.4.1. Variabel Bebas	34
4.4.2. Variabel Terikat.....	34
4.4.3. Variabel Terkendali	34
4.5. Definisi Oprasional Variabel	35
4.6. Teknik Dan Instrumen Pengumpulan Data	39
4.6.1. Alat Dan Bahan	39
4.6.2. Teknik Analisis Data	39
4.7. Teknik Analisis Data.....	45
4.8. Krangka Oprasional	46
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	47
5.1. Identifikasi Senyawa Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh	47
5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman	47
5.1.2. Pengambilan Dan Pengolahan Sampel.....	47
5.1.3. Ekstraksi	47
5.1.4. Skrining Fitokimia.....	48
5.2. Hasil Nilai Inhibisi Kuerasetin.....	48
5.2.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang	48
5.2.2. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi	49
5.2.3. Hasil Pengujian Kuersetin	49

5.3. Hasil Nilai Inhibisi Ekstrak.....	50
5.3.1. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak	50
5.4. Hasil Analisis Nilai IC ₅₀ Kuersetin Dan Ekstrak	51
BAB 6 PEMBAHASAN.....	53
6.1. Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak	53
6.1.1. Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh	53
6.1.2. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	55
6.2. Analisis Nilai Inhibisi Kosentrasi (IC ₅₀) Kuersetin	57
6.3. Analisis Nilai Inhibisi Kosentrasi (IC ₅₀) Ekstrak.....	60
6.4. Analisis Nilai Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) Kuersetin Dan Ekstrak.....	61
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	64
7.1. kesimpulan	64
7.2. saran	64
Daftar Pustaka	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 2.1 Analisis Kualitatif Senyawa Fitokimi Daun Belimbing Wuluh.....	11
Tabel 2.2. Sember Sumber Antioksidan.	16
Tabel 2.3. Kekuatan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH.	21
Tabel 2.4. Puncak Gelombang	29
Tabel 4.1. Definisi Oprasional.	35
Tabel 5.1. Hasil Ekstrak Daun Belimbing Wuluh.....	47
Tabel 5.2. Hasil Skrining Fitokimia.	48
Tabel 5.3. Hasil % Inhibisi Kuersetin.	50
Tabel 5.4. Hasil % Inhibisi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh.	51
Tabel 5.5. Hasil Analisi Kuersetin Dan Ekstrak.	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 daun belimbing wuluh.....	9
Gambar 2.2. Reaksi DPPh dan radikal bebas.....	20
Gambar 2.3. sekema alat spektrofotometer UV-VIS	26
Gambar 2.4. Skema spektrofotometer UV-Vis	26
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	31
Gambar 5.1 Grafik Panjang Gelombang.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Form Usulan Judul Penelitian.....	71
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman	72
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	73
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen.....	75
Lampiran 5. Skrining Fitokimia	75
Lampiran 6. Panjang Gelombang.....	75
Lampiran 7. Perhitungan Waktu Optimasi Inkubasi.....	76
Lampiran 8 perhitungan larutan danabsorbansi pengujian	78
Lampiran 9. Perhitungan % Inhibisi Pengujian Antioksidan.....	82
Lampiran 10. Perhitungan IC ₅₀ Pada Pengujian Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh Dan Kuersetin.....	83
Lampiran 11. Hasil Uji Statistik.....	88
Lampiran 12 Laporan Perkembangan Skripsi.....	89
Lampiran 13 Curriculum Vite	90
Lampiran 14 Dokumentasi Seminar Proposal.....	91
Lampiran 15 Dokumentasi Seminar Hasil	91

DAFTAR SINGKATAN

ROS : *Reactive Oxygen Spesies*

PG : *Propyl Gallate*

DG : *Dodecyl Gallate*

TBHQ : *Butylhydroquinone Tersier*

SDO : *Superoksida Dismutase*

CAT : *katalase*

GPX : *Glutathione Peroksidase*

IC₅₀ : *Inhibition Concertation*

DPPH : *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*

FRAP : *Ferric Reducing Antioxidant Power*

ABTS : *2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid*

MDA : *Malonaldehida*

TBA : *TiobarburaSS*

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia menjadi negara berkembang memiliki keterbatasan dalam penanggulangan masalah kesehatan, dimana penyakit infeksi masih tinggi. menurut Badan Kesehatan dunia WHO, kematian dampak penyakit degeneratif diperkirakan akan terus meningkat pada seluruh dunia, peningkatan terbesar akan terjadi pada negara-negara menengah serta miskin. Lebih asal 2 pertiga (70%) dari populasi dunia akan mati akibat penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, stroke, dan diabetes mellitus. dalam jumlah total, di tahun 2030 diprediksi akan ada 52 juta jiwa kematian pertahun karena penyakit tak menular, naik 9 juta jiwa dari 38 juta jiwa pada saat ini (Kemenkes RI, 2018). berdasarkan akibat Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, menunjukkan prevalensi penyakit degeneratif mengalami kenaikan Jika dibandingkan Riskesdas 2013, antara lain hipertensi, kolesterol, asam urat, rematik, dan diabetes melitus (Kemenkes RI, 2018).

Penyebab penyakit degeneratif dari hasil surve, masyarakat belum banyak mengetahui seperti adanya radikal bebas seperti polusi udara, sinar ultra violet, olahraga berlebihan, stress, dan konsumsi makanan berlemak atau konsumsi makanan cepat saji atau makanan gorengan yang berlebihan merupakan factor penyebab tertekan oksidatif

(Susanti, 2015). salah satu asal berasal pembentukan radikal bebas pada tubuh adalah waktu terjadinya proses inflamasi. Inflamasi merupakan suatu respon protektif lokal yang muncul karena kerusakan di jaringan yang disebabkan oleh stress berat fisik, kimiawi juga mikrobiologi (Agustina *et al*, 2015). Radikal bebas dalam kesehatan contohnya, mengurangi peradangan, membunuh bakteri dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh, sementara dalam jumlah berlebih menyebabkan stres oksidatif (Yuslianti, 2018).

Tubuh yang telah terkena radikal bebas akan terdapat reaksi berantai yang disebabkan dari radikal bebas yang akan menimbulkan kerusakan. Kerusakan yang ditimbulkan yaitu stress oksidatif meliputi inflamasi, gangguan sistem pernapasan, artritis, jantung, kanker dll. Mengatasi kerusakan yang diakibatkan radikal bebas maka diperlukan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi menetralkan senyawa yang teroksidasi dengan menangkap radikal yang ada di dalam tubuh sehingga tidak menimbulkan penyakit. Usaha yang telah dilakukan untuk mengantisipasi dampak negatif yang disebabkan radikal bebas misalnya dengan obat atau antioksidan sintetis (Sayuti, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat auto-oksidasi dengan menghambat pembentukan radikal bebas atau dengan mengganggu propagasi dari radikal bebas melalui satu atau lebih mekanisme, salah satunya dengan menghambat pembentukan peroksida melalui peredaman radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif yang berfungsi dalam

proses penuaan serta menyebabkan penyakit degeneratif yang tampak pada kulit (Heyne, 2011). Senyawa antioksidan tersebut dapat menghambat proses oksidatif sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit kronis dan degeneratif, seperti aterosklerosis, hipertensi, kanker, stroke, dan penyakit jantung koroner (Hatam *et al.*, 2013). Tubuh manusia secara alami memiliki sistem antioksidan untuk menangkal radikal bebas yaitu antioksidan endogen namun jika radikal bebas berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen seperti flavonoid, statin, niacin, dan lain-lain (Werdhasari, 2014).

Belimbing wuluh merupakan tanaman jenis buah dan obat tradisional. Tanaman belimbing wuluh sudah sering dimanfaatkan masyarakat salah satunya untuk mengobati penyakit seperti batuk dan radang rectum, selain itu tanaman belimbing wuluh banyak terdapat pada pemukiman warga sehingga memudahkan peneliti mendapatkan daun belimbing wuluh. Ekstrak metanol daun belimbing wuluh diantaranya mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenol, dan triterpenoid. (Hasanuzzaman *et al*, 2013). Ekstrak etanol daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $16,99 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$ (Hasim *et al*, 2019). Menurut Alhassan dan Ahmed (2016), ekstrak metanol daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antidiabetes dengan kemampuan menurunkan kadar gula dalam darah pada pengujian secara in-vivo. Daun belimbing wuluh mengandung senyawa apigenin-6-C- β -fucopyranoside yang menunjukkan aktivitas antihiperglikemik pada pengujian secara in-vivo (Cazarolli *et al*, 2012).

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut di atas, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menggunakan pelarut metanol. Penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar potensi antioksidan dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) tersebut. Metode penelitian antioksidan ini menggunakan metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometer UV-VIS (Ultraviolet- Visible). Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan. Perubahan dari radikal bebas (*diphenyl picryl hydrazine*) menjadi senyawa yang tidak atau non-radikal (*diphenyl picryl hydrazine*) yang ditandai dengan larutan berubah menjadi warna ungu (Setiawan, 2018). Penggunaan metode DPPH karena prosesnya lebih cepat (tidak memerlukan waktu inkubasi yang lama), sederhana, dan tidak membutuhkan jumlah sampel yang banyak (Lung, 2017).

1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah kandungan senyawa alkhaloid, flavonoid, tanin, saponin dan fenolik pada ekstrak metanol daun blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)?
- 1.2.2. Apakah ekstrak metanol dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mempunyai aktivitas antioksidan?
- 1.2.3. Berapa nilai IC_{50} pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan menggunakan metode DPPH

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia alkhaloid, flavonoid, tanin, saponin dan fenolik pada ekstrak metanol daun blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
- 2) Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi IC₅₀ pada kuersetin dengan kosentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm
- 3) Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi IC₅₀ pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh dengan kosentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm
- 4) Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa IC₅₀ pada ekstrak metanol daun blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).dengan kuersetin

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Ilmu Kefarmasian

Dapat digunakan sebagai referensin dalam sebuah penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan menggunakan metode DPPH

1.4.2. Bagi farmasi atau tenaga kesehatan

Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan farmasi dalam memaksimalkan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)

1.4.3. Bagi institusi pendidikan atau pelayanan kesehatan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi penambahan ilmu pengetahuan, khususnya bagi ilmu kefarmasian mengenai antioksidan, serta menjadi referensi bagi mahasiswa lain.

1.4.4. Bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan bisa menambah wawasan, pengetahuan, dan pengalaman penelitian

1.5. Keaslian Penelitian

Tabel 1.1. keaslian penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Reni Martina, (2019)	1. Menggunakan metode DPPH 2. Menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh	1. Menggunakan pelarut Metanol 2. Beda metode ekstraksi dari sebelumnya, pada penelitian sebelumnya menggunakan metode infusa. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi
Jelita, (2019)	1. Menggunakan metode DPPH 2. Langkah-langkah penelitian	1. Menggunakan Sampel Ekstrak Daun Kari (<i>Murayya koeginii</i>) sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel daun belimbing wuluh 2. Beda konsentrasi sampel dari sebelumnya, pada penelitian sebelumnya menggunakan konsentrasi uji ekstrak sebesar 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

2.1.1. Morfologi Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Belimbing wuluh tumbuh subur pada dataran tinggi diatas 500 meter di atas permukaan air laut. Jenis tumbuhan ini masuk ke dalam spesies dalam keluarga averrhoa yang dikenal memiliki berbagai macam fungsi pada dunia pengobatan herbal tradisional. Di negara filiphina ekstrak dari daun belimbing wuluh di gunakan sebagai obat pereda rheumatik, penyakit kulit dan gondok. Di negara malaysia, daun fermentasi segar dari tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit seksual yang menular. Daun belimbing wuluh di Indonesia sendiri digunakan untuk pengobatan penyakit luka, penurun panas, gondok, rheumatik, sakit perut dan diabetes (Andini, 2020).

Belimbing wuluh memiliki batang yang kasar berbenjol-benjol, bercabang sedikit, arahnya condong keatas. Cabang muda berambut halus seperti beludru, warna coklat muda. Daun berupa daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai lonjong, ujung runcing, pangkal memudar tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warna hijau, permukaan bawah berwarna hijau muda (Herbie, 2015). Menurut Gendrowati (2015), batang pohon belimbing wuluh memiliki ketinggian mencapai ± 15 meter dengan percabangan yang sedikit. Batangnya tidak terlalu besar dengan diameter

sekitar 30 cm. Daunnya tersusun ganda dengan bentuk kecil, bulat telur. Ukurannya antara 2-10 cm × 1-3 cm dan berwarna hijau. Bunganya merupakan bunga majemuk yang tersusun dalam malai sepanjang 5-20 cm secara berkelompok. Bunga keluar dari percabangan dengan bentuk seperti bintang yang berwarna ungu kemerahan. Buahnya bentuknya lonjong bulat persegi. Panjangnya sekitar 4-6,5 cm, berwarna hijau agak kekuningan. Biji dalam bentuk gepeng. Pohon belimbing wuluh dapat tumbuh didataran redah hingga mencapai 500 mdpl. Rasa buahnya asam (Samtosa, 2014).



Gambar 2.1 daun belimbing wuluh (sumber:Dokumen pribadi, 2022)

2.1.2. Klarifikasi Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Oxalidales
Family	: Oxalidaceae
Genus	: Averrhoa
Spesies	: (<i>Averrhoa bilimbi</i> L)

Menurut Suryaningsih (2016)

2.1.3. Kandungan kimia daun blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Belimbing wuluh termasuk ke dalam jenis obat herbal atau tradisional dan buah. Ekstrak dari daun belimbing wuluh diantaranya terdapat triterpenoid, saponin, tanin, flafonoid, alkaloid dan fenol. diketahui juga bahwa pada ekstrak metanol dari daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antioksidan (Hasanuzzaman *et al*, 2019). Aktivitas antioksidan dari komponen senyawa flavonoid dan fenol adalah dengan cara mereduksi radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulnya (Zuraida, 2017).

2.1.4. Manfaat Blimbing Wuluh

Selain sebagai obat tradisional, belimbing wuluh seringkali dimanfaatkan sebagai penyedap makanan, rempah masak, pengawet, pembuat makanan terasa segar, pembersih noda pakaian, pembersih tubuh yang kotor, pembersih karat pada logam, keramik. Daun belimbing wuluh bisa mengobati sakit perut, reumatik, gondongan, dan penurun panas. Buah belimbing wuluh dapat dimanfaatkan mengobati batuk rejan, jerawat, tekanan darah tinggi, gusi berdarah, sariawan, gigi berlubang, gangguan dan radang fungsi pencernaan (Parikesit, 2011) , belimbing wuluh juga mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid yang dapat berperan sebagai anti bakteri (Muchtadi *et al*, 2013). Menurut organisasi kesehatan dunia WHO merekomendasikan pemanfaatan obat tradisional sebagai usaha

pemeliharaan kesehatan penduduk, yaitu pengobatan dan pencegahan penyakit-penyakit generative seperti kanker.

2.1.5. Fitokimia Daun Blimbing Wuluh

Tabel 2.1. Analisis kualitatif senyawa fitokimia daun belimbing wuluh
(Susi Yanti, (2019).)

Senyawa Fitokimia	Hasil
Alkaloid	(-)
Meyer	(+ +)
Wagner	(+ +)
Dragendrof	(+ + +)
Flavonoid	(+ +)
Tanin	(+ + +)
Saponin	(+ + + +)
Steroid	(+ + +)

2.2. Radikal Bebas

2.2.1. Definisi

Radikal bebas adalah atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit neuro degeneratif, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Phaniendra *et al*, 2015). Menurut Syahara dan yulia (2020) radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya,

sehingga menyebabkan molekul ini tidak stabil dan menimbulkan sifat sangat reaktif. Untuk mencapai kestabilan, molekul ini akan bereaksi dengan molekul sekitar untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi yang terus menerus berlangsung di dalam tubuh ini jika tidak dihentikan dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

2.2.2. Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber terdiri dari dalam tubuh, yaitu outooksidasi atau oksidasi enzimatik, berasal dari luar tubuh yaitu polusi udara dari kegiatan industri kimia, sistem transportasi, asap rokok dan radiasi dari alat elektronik seperti HP, televisi dan lainnya. Sumber radikal bebas tersebut dapat menyebabkan terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Spesies*). Produksi ROS yang berlebihan akan mengakibatkan stres oksidatif. ROS dalam tubuh memiliki berbagai bentuk yaitu superoksida anion (O_2^-), radikal hidroksil (HO), lipid (R), dan peroksida lainnya seperti ROO dan XO (Berawi, 2017). Paparan radikal bebas bagi tubuh manusia bersifat akumulatif yang menyebabkan muncul berbagai penyakit apabila sistem imun tubuh manusia tidak dapat lagi mentolerir keberadaan senyawa radikal bebas (Fakriyah, 2019)



Gambar 2.2. Sumber radikal bebas eksogen (Sumber: Bawang Hitam Gresik, 2016)

2.2.3. Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas

Penyakit yang disebabkan radikal bebas menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit neuro degeneratif, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Phaniendra *et al*, 2015). Sejak tahun 2015, sebanyak 8,8 juta pasien meninggal karena kanker dan menjadikannya penyebab kematian nomor 2 secara global (WHO, 2017).

2.3. Antioksidan

2.3.1. Definisi

Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan antioksidan untuk menyeimbangkan efek oksidan. Antioksidan adalah suatu substansi yang dapat menghambat dan melawan oksidasi. Produksi ROS yang berlebihan akan mengakibatkan tidak seimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan sehingga timbullah stres oksidatif. Antioksidan merupakan penghambat proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil

antioksidan memiliki fungsi fisiologis yang beragam dalam tubuh (Yadav, 2016)

2.3.2. Macam-Macam Antioksidan

Secara umum antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu endogen atau eksogen untuk membantu menetralkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh di antaranya glutathione, ubiquinone, dan asam urat. Sementara antioksidan eksogen yang bersifat lebih ringan di antaranya vitamin C, E, dan beta karoten (Rao dan Moller, 2011). Namun ada juga Antioksidan sintetis yaitu antioksidan yang tidak terdapat di alam tetapi disintesis secara kimiawi dan ditambahkan ke produk makanan sebagai pengawet untuk membantu mencegah oksidasi lipid. Beberapa dari antioksidan sintetis yang saat ini diizinkan untuk digunakan dalam makanan termasuk BHT, BHA, propyl gallate (PG), dodecyl gallate (DG) dan butylhydroquinone tersier (TBHQ) (Kebede, 2019). Secara alami tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan, dengan mekanisme pertahanan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi kebutuhan tubuh, selanjutnya tubuh akan membutuhkan antioksidan dari luar contohnya dari tanaman maupun obat sintetis (Werdhasari, 2014)

2.3.3. Mekanisme Antioksidan

Sistem pertahanan antioksidan memiliki beberapa mekanisme kerja, yaitu mempercepat reaksi penetralan radikal bebas oleh enzim, mereduksi radikal bebas dengan donor elektron, dan mengikat ion logam oksidan dengan protein pengikat. Antioksidan untuk kepentingan klinis diklasifikasikan menjadi antioksidan enzim dan nonenzim. Mekanisme reaksi senyawa antioksidan sangat erat kaitannya dengan reaktivitas dan struktur kimia radikal bebas serta lingkungan tempat spesies reaktif itu berasal (Sanchez, 2019)

2.3.4. Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti: *Superoksida Dismutase* (SOD), *katalase* (Cat), dan *Glutathione Peroksidase* (Gpx); serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycocyanin, dan lain-lain. Berbagai bahan alam, baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, mengandung berbagai antioksidan tersebut (Werdhasari, 2014)

Tabel 2.2. sumber –sumber antioksidan alami (Werdhasari, 2014)

Senyawa	Sumber
vitamin A	wortel, brokoli, sayur hijau, bayam, labu, hati, kentang, telur, aprikot, mangga, susu dan ikan.
. Vitamin C	Lada (merica), cabe, peterseli, jambu biji, kiwi, brokoli, toge, kesemek, pepaya, stroberi, jeruk, lemon, bunga kol, bawang putih, anggur, raspberri, jeruk, bayam, tomat dan nanas
Karotenoid	Sayuran berdaun gelap, wortel, ubi jalar, ubi jalar, tomat, aprikot, buah jeruk, kangkung, pepaya.
Asam fenolat	Minyak sayur dan minyak tertentu, sereal, biji-bijian
Vitamin E	asparagus, alpukat, buah zaitun, bayam, kacang kacangan, biji bijian, minyak sayur, sereal. Beta karoten, lutein, likopen, wortel, labu, sayur sayuran hijau, buah buah berwarna merah, tomat, rumput laut
Flavonoid (polifenol)	minyak sayur, selada, beri, terong, paprika, jeruk, bawang, teh hitam.
Ekstrak	Ekstrak dari teh hijau, rosemary, sage, cengkeh,oregano, timi, oat, dedak beras

2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan menurut Vignoli (2011). Ekstrak metanol daun belimbing wuluh dilakukan menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja metode ini adalah proses reduksi senyawa radikal bebas DPPH oleh antioksidan. Metode antioksidan secara in vitro terbagi menjadi metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid (ABTS), dan deoksiribosa (Sharma, 2014)

2.4.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Metode DPPH merupakan pengukuran penangkal radikal bebas sintetik dalam pelarut organik pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu electron dari antioksidan. Metode ini juga merupakan pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok bagi pelarut etanol dan metanol seperti yang dilakukan oleh Rochmantika (2012). Proses penangkalan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH sebagai sumber radikal bebas. Menurut Muhammad (2013). Metode DPPH ini mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya mudah, sederhana, cepat, reproduibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Metode DPPH digunakan untuk memberikan informasi mengenai potensi antioksidan golongan senyawa yang diuji terhadap suatu radikal bebas yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} .

2.4.2. Ferric Reducing Antioxidant Power

Metode FRAP (adalah metode yang dapat menentukan suatu kandungan antioksidan total berdasarkan kemampuan senyawa antioksidannya mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan tersebut dapat dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut. Prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer elektron dari

antioksidan ke senyawa Fe^{3+} -TPTZ. Senyawa Fe^{3+} -TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel (Maryam *et al*, 2015).

2.4.3. 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid

ABTS adalah reagen yang dapat tetap stabil selama tiga hari dalam ruang gelap di suhu 25 °C (Konan *et al*, 2016). ABTS sering digunakan oleh industri makanan untuk mengukur antioksidan makanan (Firiana *et al*, 2016). Metode peredaman radikal bebas 2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) merupakan metode pengujian untuk mengukur jumlah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, kelebihan ABTS dibandingkan dengan metode lain yaitu pengujiannya yang sederhana, efektif, cepat, dan mudah diulang. (Hendri, 2019)

2.4.4. Deoksiribosa

Metode deoksiribosa menggunakan reaksi degradasi deoksiribosa dengan radikal bebas yang dihasilkan dari larutan besi (II) sulfat dan hidrogen peroksida. Radikal bebas dicampurkan dengan ekstrak dan 2-deoksiribosa. Reaksi ini membentuk malonaldehida (MDA). Antioksidan dalam ekstrak tanaman akan mencegah radikal hidroksil merusak 2-deoksiribosa, sehingga produk MDA terhambat. Kemudian larutan diberikan tiobarburat (TBA) yang akan berikatan dengan MDA dan menyebabkan warna merah (Young *et al*, 2013).

2.5. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

2.5.1. Definisi

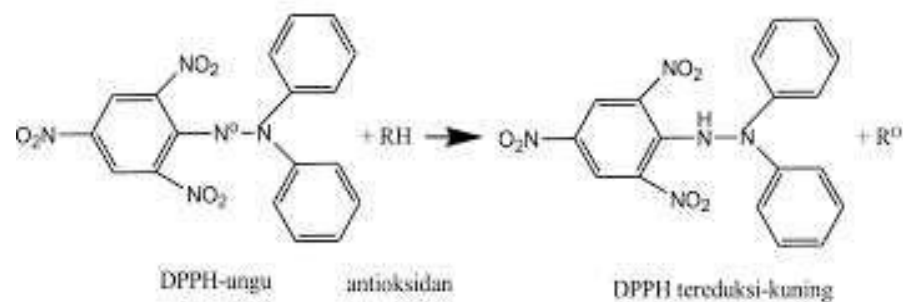
Metode DPPH adalah metode uji aktivitas antioksidan menggunakan reagen DPPH yang berperan sebagai senyawa radikal. Metode DPPH merupakan metode *in vitro* yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel (Lung, 2017). Prinsip kerja metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl) ini yaitu, ketika larutan DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan, senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada DPPH. Kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm, jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua menjadi kuning/kuning pucat) perubahan warna tersebut menunjukkan kemampuan sampel atau ekstrak dalam merendam aktivitas radikal bebas DPPH. (Kedare *et al*, 2011). Kekurangan DPPH yaitu DPPH radikal hanya bisa larut dalam pelarut organik (Kurniawati *et al*, 2021).

2.5.2. Mekanisme

Hasil dari reaksi DPPH dapat diamati dengan perubahan larutan dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna menunjukkan bahwa DPPH telah tereduksi oleh proses donasi hidrogen atau electron dari senyawa antioksidan sehingga warnanya berubah dari violet ke kuning dan DPPH memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm (Lung, 2017)

Mekanisme kerja dari metode DPPH dengan adanya interaksi antioksidan dari senyawa yang terdapat dalam sampel dengan DPPH.

Transfer elektron atau radikal hidrogen akan terjadi pada DPPH dan akan menetralkan radikal bebas dari DPPH tersebut. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Kiay *et al*, 2011)



Gambar 2.2. Reaksi DPPH dan radikal bebas

Senyawa yang memiliki kemampuan penangkap radikal umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H), sehingga atom H tersebut dapat ditangkap oleh radikal DPPH (hidrazil) untuk berubah menjadi bentuk netralnya (hidrazin)

2.5.3. Tingkat kekuatan

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan senyawa sebagai antioksidan yaitu IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak atau fraksi uji sebagai sumbu x dan % penangkapan radikal sebagai sumbu y. Makin kecil nilai IC_{50} maka semakin aktif ekstrak atau fraksi uji tersebut sebagai senyawa

penangkap radikal DPPH atau senyawa antioksidan. Nilai IC_{50} ekstrak daun belimbing wuluh akan dibandingkan dengan nilai IC_{50} atau pembanding (Morales, 2013).

Tabel 2.3. kekuatan aktivitas antioksidan dengan metode 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sumber: Sadeer, 2020)

Kekuatan Aktivitas	Nilai IC_{50}	Warna
Sangat Kuat	$<50 \mu\text{g/mL}$	Kening pucat
Kuat	$50-100 \mu\text{g/mL}$	Kuning
Sedang	$101-150 \mu\text{g/mL}$	Unggu
Lemah	$>150 \mu\text{g/mL}$	Unggu gelap

2.6. Metode Ekstraksi

2.6.1. Definisi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk proses ekstraksi tersebut. Proses ekstraksi bermula dari penggumpalan ekstrak dengan pelarut kemudian terjadi kontak antara bahan dan pelarut sehingga pada bidang datar antarmuka bahan ekstraksi dan pelarut terjadi pengendapan massa dengan cara difusi (Harjanti, 2016). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).

2.6.2. Macam-Macam Ekstraksi

Dalam metode ekstraksi yang paling umum digunakan yaitu maserasi, perkolasi, sokhletasi dan refluktasi (Febrina, 2015). Metode pada penelitian ini memakai metode maserasi..

1) Maserasi

Metode maserasi ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrani, 2014).

2) Perkolasi

Dalam metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak

homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhrani, 2014).

3) Sokhletasi

Pada metode sokhletasi ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhrani, 2014).

4) Reflukstasi

Metode Reflukstasi yakni teknik yang melibatkan kondensasi uap dan kembali kondensat ini kesistem dari mana ia berasal. Hal ini digunakan dalam industry dan laboratorium distilasi. Hal ini juga digunakan dalam kimia untuk memasok energi untuk reaksi-reaksi selama jangka waktu yang panjang. Refluks merupakan metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan mampu mengekstraksi andrografolid yang merupakan senyawa tahan panas. Faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi diantaranya jumlah pelarut dan waktu ekstraksi. Untuk

mengetahui keberhasilan metode refluks, dilakukan pula ekstraksi dengan maserasi (Riska, 2018).

2.6.3. Pelaut

Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses ekstraksi. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi jenis komponen aktif bahan yang terekstrak karena masing-masing pelarut mempunyai selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dalam bahan.(Romadhoni, 2017). Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya (Arifianti *et al*, 2014). Pelarut polar yang biasanya dapat digunakan dalam ekstraksi berupa etanol, metanol, dan air dan sebagainya (Mukhriani, 2014).

2.7. Instrumen Spektrofotometer UV-VIS

2.7.1. Definisi

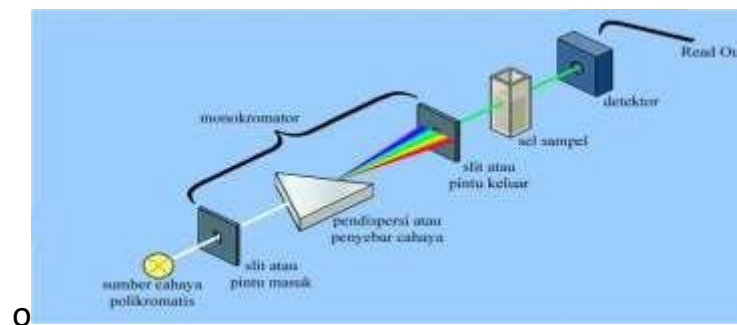
Pada penetapan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada penelitian ini menggunakan instrumen Spektrofotometer Uv – Vis. Spektrofotometer Uv – Vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultra violet (200-350 nm) dan sinar tampak (350 – 800 nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya uv atau cahaya tampak mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron – elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Dimana detektor dapat mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan secara tidak langsung cahaya yang diabsorpsi. Tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang

terbentuk. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat elektron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas,2011)

2.7.2. Jenis Spektrofotometer

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrument (Gambar 2.3), dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm (Suhartati, 2017). Doublebeam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. Double- beam instrument (Gambar 2.4) 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)

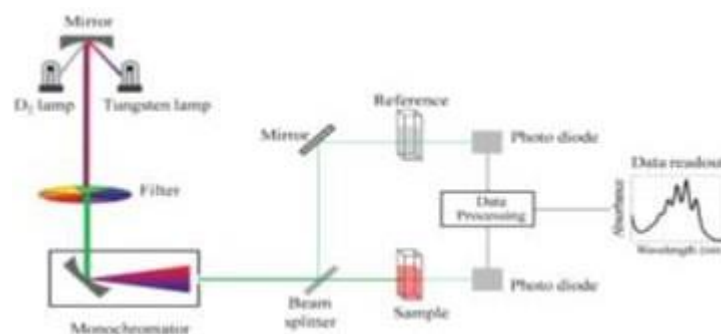
Sumber cahaaoooooooooya – monokromatis – sel sampel – detector- read out



Gambar 2.3. Sekema alat spektrofotometer UV-VIS (single-beam)

(Sumber: Suhartati, 2017)

Sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digun kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.



Gambar 2.4 Sekema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam)

(Sumber: Suhartati, 2017)

2.7.3. Sumber Radiasi

1) Sumber Radiasi

Sumber sinar atau sumber radiasi dari spektrofotometer Uv-Vis ini berasal dari beberapa jenis lampu, seperti : lampu hidrogen, lampu deuterium (panjang gelombang 180-350 nm), lampu xenon, dan lampu pijar tungsten (panjang gelombang 350-2500 nm)

2) Monokromator

Monokromator pada spektrofotometer Uv-Vis ini berfungsi untuk memecah sumber radiasi yang memiliki pita energi lebar (polikromatis) menjadi radiasi dengan pita energi yang lebih sempit (monokromatis). Monokromator mampu menghasilkan radiasi dengan lebar pita efektif sebesar $35 - 0,1$ nm.

3) Wadah Sampel (Cuvet)

Wadah sampel atau cuvet terbuat dari kuarsa atau silika untuk penggunaan radiasi Uv dan terbuat dari gelas biasa atau kuarsa untuk radiasi sinar tampak. Cuvet memiliki ketebalan yang bervariasi yaitu dari 1-10 cm. Posisi penempatan cuvet pada instrumen spektrofotometer Uv-Vis adalah permukaan cuvet tegak lurus dengan datangnya radiasi sehingga kehilangan radiasi akibat pantulan/refraksi dapat dikurangi.

4) Detektor

Detektor pada spektrofotometer Uv-Vis berfungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Syarat detektor spektrofotometer Uv-Vis adalah

memiliki sensitivitas tinggi sehingga daya radiasi yang kecil dapat terdeteksi, memiliki waktu respon yang singkat, dan juga stabil.

2.7.4. Syarat Pengukuran

Spektrofotometer UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan (Suhartati, 2017) beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

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

2.7.5. Pengujian Secara In Vitro

Pengujian in vitro merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan. (Ikrom *et al*, 2014). Para penelitlebih mengembangkan metode in vitro karena metode in vivo membutuhkan waktu pengerjaan yang lama. Metode antioksidan secara in vitro terbagi menjadi metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), xantin oksidase, tiosianat, dan deoksiribosa (Sharma, 2014).

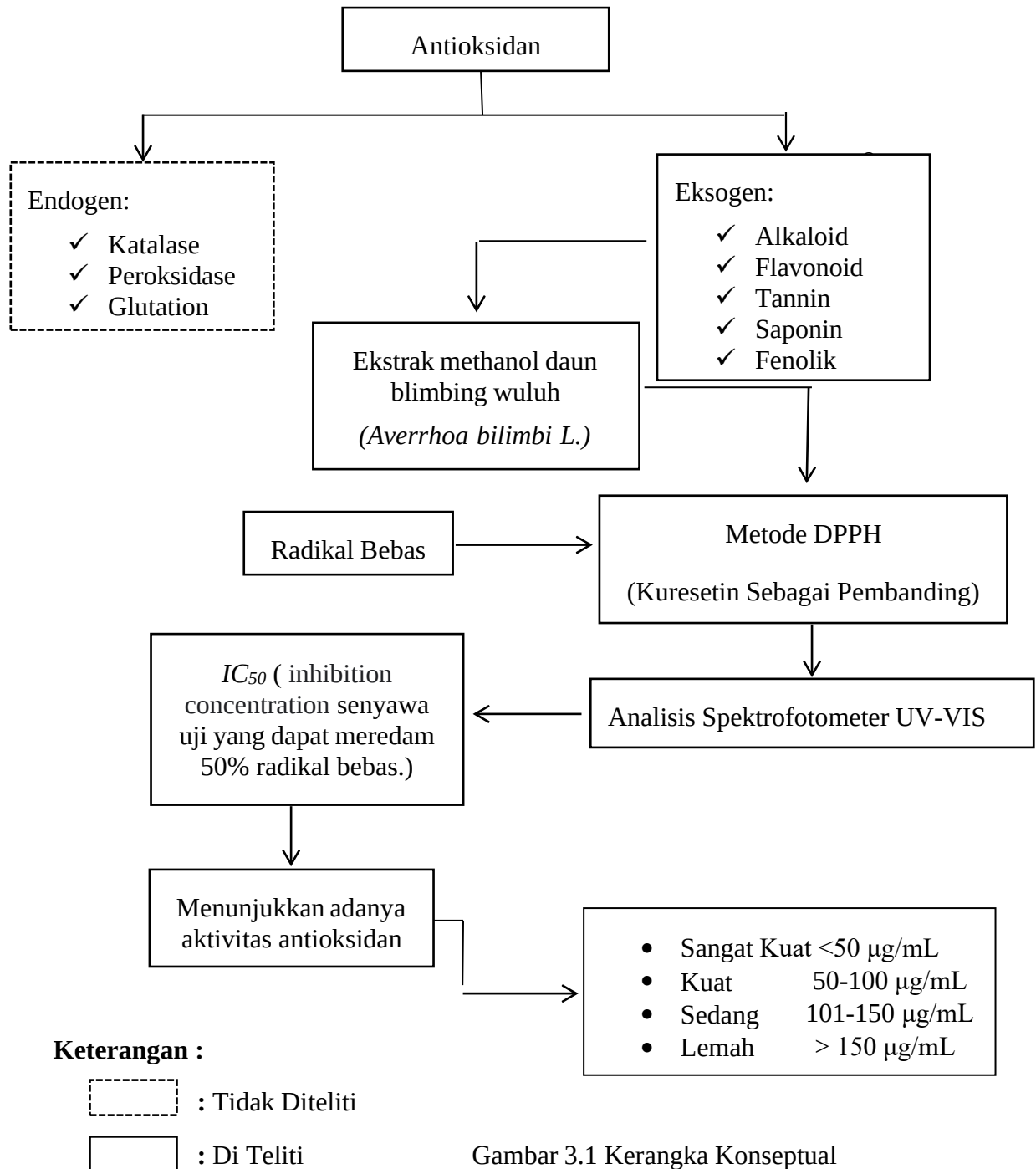
Tabel 2.4. puncak gelombang

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

BAB 3 KERANGKA KONSEP

o

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2. Hipotesis

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

Hipotesis (H0) :

Ekstrak daun blimbing wuluh tidak mengandung senyawa
Alkaloid

Hipotesis (H1) :

Ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa Alkaloid

Hipotesis (H0) :

Ekstrak daun blimbing wuluh tidak mengandung senyawa
Flavonoid

Hipotesis (H1) :

Ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa Flavonoid

Hipotesis (H0) :

Ekstrak daun blimbing wuluh tidak mengandung senyawa
Tanin

Hipotesis (H1) :

Ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa Tanin

Hipotesis (H0) :

Ekstrak daun blimbing wuluh tidak mengandung senyawa
Saponin

Hipotesis (H1) :

Ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa Saponin

Hipotesis (H0) :

Ekstrak daun blimbing wuluh tidak mengandung senyawa
Fenolik

Hipotesis (H1) :

Ekstrak daun blimbing wuluh mengandung senyawa Fenolik

Hipotesis (H0) :

Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol
daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan pelarut
metanol menggunakan metode DPPH.

Hipotesis (H1) :

Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun blimbing
wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan pelarut metanol
menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan metode *Dipenyl-piclyhydriazil-radical* (DPPH)

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Menurut Nursalam (2017) populasi adalah subyek penelitian yang memenuhi kriteria yang ditetapkan oleh peneliti. Populasi penelitian ini adalah ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*) dengan berbagai macam konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm)

4.2.2. Sampel

Menurut Nursalam (2017) sampel adalah sebagian populasi penelitian yang dipergunakan sebagai subjek penelitian melalui sampling. Sampel dalam penelitian ini menggunakan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang di dapat dari Jember, Jawa Timur dan diambil secara acak

4.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Universitas Dr. Soebandi Jember dan penelitian ini dilaksanakan dari bulan agustus – seesai 2022

4.4. Variabel Penelitian

4.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak pelarut metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)

4.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah % hambat yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .

4.4.3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode analisis antioksidan dengan metode DPPH

4.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 4.1. Definisi Oprasional

Variable	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Skala Ukur	Indikator	Hasil Ukur
Mengidentifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh						
Alkaloid	Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstak metanol daun belimbing wuluh	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan pereaksi Dragendorff dan Mayer	Nominal	Uji positif alkaloid ditunjukan dengan adanya endapan putih dan keruh	“1” = Positif (+) “2” = negatif (-)
Flavonoid	Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstak metanol daun belimbing wuluh	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan 2-3 tetes H ₂ SO ₄	Nominal	Uji positif flavonoid ditunjukan dengan adanya , kuning atau jingga	“1” = Positif (+) “2” = negatif (-)
Tanin	Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstak metanol daun belimbing wuluh	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan 2-3 tetes FeCl ₃ 1%	Nominal	Uji positif tanin ditunjukan dengan adanya warna biru tua atau hijau kehitaman	“1” = Positif (+) “2” = negatif (-)

Saponin	Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan 10 mL air tambahkan 1 tetes HCl lalu di kocok selama 10 detik	Nominal	Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit	“1” = Positif (+) “2” = negatif (-)
Fenolik	Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan 2 tetes FeCl ₃ 1%.	Nominal	Uji positif Fenolik ditunjukkan dengan adanya warna coklat sampai kehitaman	“1” = Positif (+) “2” = negatif (-)
Pengujian Aktivitas Antiooksidan Dengan Beberapa Kosentrasi						
Variable	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Skala Ukur	Indikator	Hasil Ukur
50 ppm	Menunjukkan absorbansi pada sampel daun belimbing wuluh yang kemudian dihitung dengan % perendaman dan di tentukan konsentrasi penghambatan 50%	Sepektrofotometer UV-Vis	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari larutan induk ke dalam larutan sampel yakni: 50 ppm sebanyak 0,5 ml	Ordinal	IC_{50} senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas.	➤ Sangat : <50 µg/ml ➤ Kuat: 50-100 µg/ml ➤ Sedang: 101-150 µg/ml ➤ Lemah: >150 µg/ml

	(IC ₅₀)					
100 ppm	Menunjukkan absorbansi pada sampel daun belimbing wuluh, yang kemudia dihitung dengan % perendaman dan di tentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC ₅₀)	Sepektrofotometer UV-Vis	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari larutan induk ke dalam larutan sampel yakni: 50 ppm sebanyak 0,5 ml	Ordinal	IC ₅₀ senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas.	➤ Sangat : <50 µg/ml ➤ Kuat: 50-100 µg/ml ➤ Sedang: 101-150 µg/ml ➤ Lemah: >150 µg/ml
150 ppm	Menunjukkan absorbansi pada sampel daun belimbing wuluh, yang kemudia dihitung dengan % perendaman dan di tentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC ₅₀)	Sepektrofotometer UV-Vis	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari larutan induk ke dalam larutan sampel yakni: 150 ppm sebanyak 1,5 ml	Ordinal	IC ₅₀ senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas.	➤ Sangat : <50 µg/ml ➤ Kuat: 50-100 µg/ml ➤ Sedang: 101-150 µg/ml ➤ Lemah: >150 µg/ml

200 ppm	Menunjukkan absorbansi pada sampel daun belimbing wuluh, yang kemudian dihitung dengan % perendaman dan di tentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50})	Spektrofotometer UV-Vis	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari larutan induk ke dalam larutan sampel yakni: 200 ppm sebanyak 2 ml	Ordinal	IC_{50} senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas.	➤ Sangat : <50 µg/ml ➤ Kuat: 50-100 µg/ml ➤ Sedang: 101-150 µg/ml ➤ Lemah: >150 µg/ml
250 ppm	Menunjukkan absorbansi pada sampel daun belimbing wuluh, yang kemudian dihitung dengan % perendaman dan di tentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50})	Spektrofotometer UV-Vis	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari larutan induk ke dalam larutan sampel yakni: 250 ppm sebanyak 2, 5 ml	Ordinal	IC_{50} senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas.	➤ Sangat : <50 µg/ml ➤ Kuat: 50-100 µg/ml ➤ Sedang: 101-150 µg/ml ➤ Lemah: >150 µg/ml

4.6. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.6.1. Alat dan Bahan

1) Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik, toples maserasi, alat-alat gelas, almunium foil, spatula, vial, corong buchnes, kertas saring, sepektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, ultrasonik, kuvet disposable, blender, penyaring, cawan, disikator, dan stopwatch

2) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*) yang diambil dari Jember, Jawa Timur, methanol terdestilasi 96%, kurasetin, larutan dpfh

4.6.2. Teknik Analisa Data

1) Determinasi Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*)

Determinasi tanaman belimbing wuluh di lakukan di laboratorium tanaman politeknik negri jember dengan membawa semua bagian dari tanaman. Tujuan dilakukan determinasi yaitu untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut banar-benar sepesies dari (*Averrhoa bilimbi L.*)

2) Pembuatan simplisia dan serbuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)

Pembuatan simplisia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dilakukan dengan cara mencucu daun belimbing wuluh dengan bersih kemudian jemur di bawah sinar matahari hingga kering, simplisia yang sudah kering di haluskan menggunakan blender

3) Pembuatan ekstrak methanol daun belimbing wuluh

Serbuk simplisia di ekstrak dengan metode maserasi. Serbuk simplisia sebanyak 300 gram direndam dalam 900 ml metanol selama 3 hari sambil diaduk setiap hari. Setelah tiga hari ekstrak disaring dengan kertas saring untuk mendapat filtratnya selanjutnya dilakukan remaserasi dengan pelarut yang sama selama 24 jam. Kemudian di uapkan atau pisahkan larutan tersebut dengan rotary evaporator pada suhu 50°C selanjutnya menggunakan water bath pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat daun blimbing wuluh

4) Skrining Fitokimia

(1) Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak diuapkan di atas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 2 mL HCl 1%. ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung. Pada pereaksi Dragendorff akan terbentuk endapan berwarna jingga (Rahman *et al*, 2019)

(2) Uji Flavonoid

Sebanyak 1mg larutan uji ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan diaduk dengan kuat sampel mengandung flavonoid jika berwarna kuning (Depkes RI, 2014).

(3) Uji Tanin

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Minarno, 2015).

(4) Uji Saponin

Sebanyak 2-3 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuatkuat selama 10 detik lalu ditambahkan 2-3 tetes HCl . Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit (Rahman *et al*, 2019)

(5) Uji Fenolik

Sebanyak 5 mg ekstrak daun belimbing wuluh ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ 1%. Ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna coklat sampai kehitaman (Lemak *et al*, 2016).

5) Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

(1) Pembuatan Larutan DPPH

Dibuat larutan DPPH menggunakan konsentrasi 50 ppm dibuat dengan cara menimbang 5 mg DPPH lalu dilarutkan menggunakan 100 ml methanol p.a pada labu ukur.

(2) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak di dibuat sebanyak 1000 ppm dengan cara menimbang ekstrak daun belimbing wuluh sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan menggunakan methanol p.a secukupnya sambil diaduk sampai homogen kemudian ad volume 10 ml. Larutan induk menggunakan konsentrasi 50ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm kemudian ditambahkan dengan metanol p.a untuk mendapatkan beberapa konsentrasi larutan uji akhir buat masing-masing ekstrak.

(3) Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin, dibuat larutan stok sebanyak 200 ppm dengan menimbang sebanyak 2 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volume 10 ml selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, serta 50 ppm

(4) Penentuan panjang gelombang

Pipet sebanyak 200 mikroliter metanol p.a kedalam kuvet kemudian ditambah larutan dpph sebanyak 3 ml homogenkan dan dibaca panjang gelombang 400-800 nm

(5) Penentuan waktu inkubasi optimal

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu optimum saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Larutan uji ekstrak dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 300 µl dan direaksikan dengan larutan dpph sebanyak 600 µl. Sampel diamati absorbansi pada panjang gelombang maksimum mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit

(6) Pengukuran Aktivasi Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*) dan Kuersetin

Pengukuran aktivasi antioksidan dilakukan dengan cara memipet 300 µl dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm) dan Larutan Kuersetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm), kemudian ditambahkan menggunakan mikropipet sebanyak 600 µl DPPH setiap konsentrasi. Kemudian diinkubasi selama waktu optimum pada ruang gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Handayani, 2014)

(7) Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dapat dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel})}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

(Ulfah *et al*, 2013)

Keterangan:

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

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

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivasi antioksidan berupa nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari inhibisi dan konsentrasi yang dihitung dengan rumus :

$$Y = a + bX$$

Keterangan :

Y : variabel terikat

a : variabel bebas

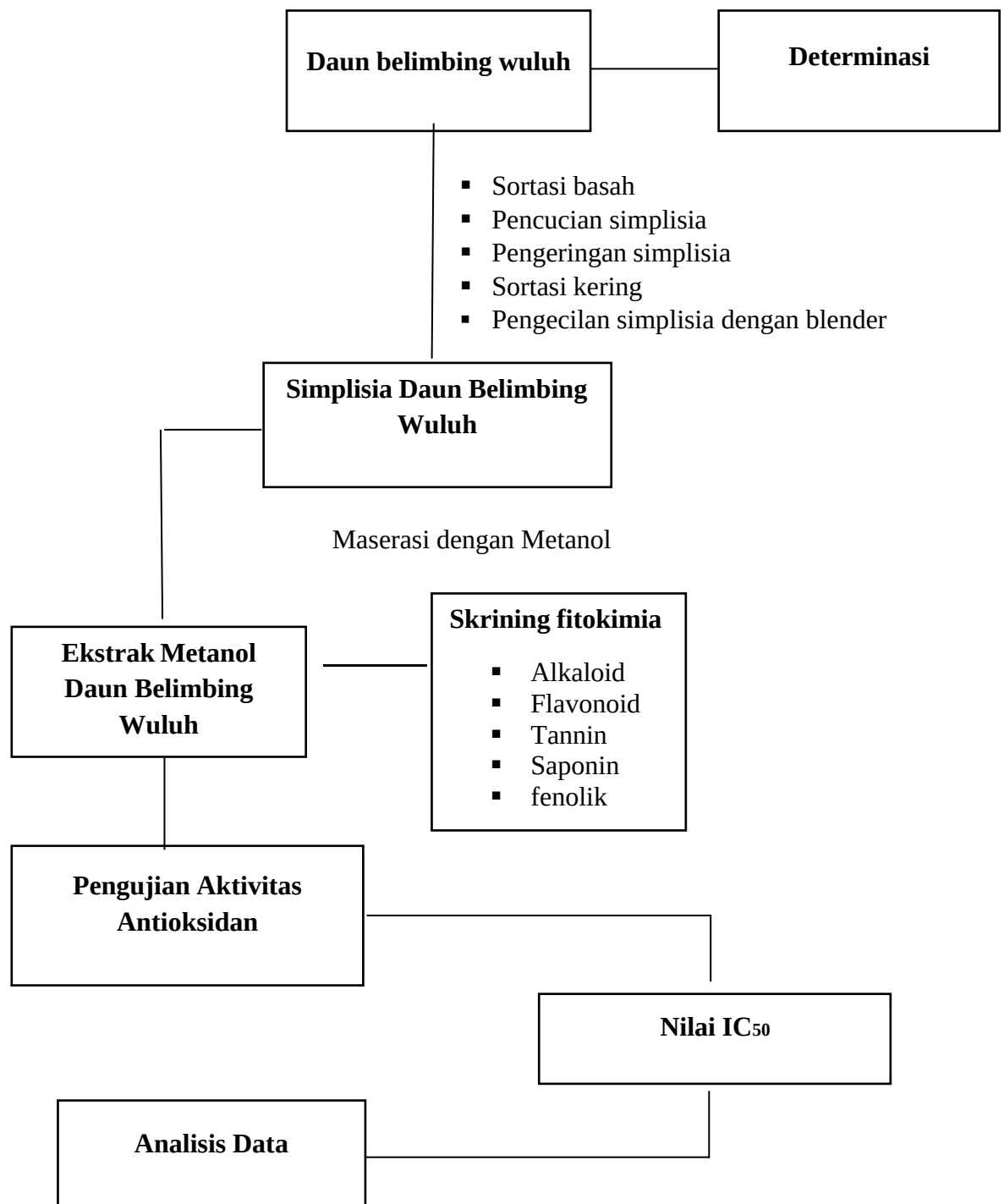
b : konstanta

X : kofisien regresi

4.7. Teknik Analisis Data

Dalam pengolahan data IC_{50} dari ekstrak metanol dau belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*) dan kuarsetin yang diperoleh dari hasil penelitian, diuji normalitas menggunakan (*Shapiro-Wilk*) sebagai syarat uji analisis independent T-test. Data IC_{50} masing-masing dianalisis menggunakan uji T tidak berpasangan untuk melihat perbedaan IC_{50} antara ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbing L.*) dengan kuarsetin (Nisaul, 2020).

4.1. Kerangka Oprasional



Gambar 4.1 kerangka oprasional

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1. Identifikasi Senyawa Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh

(*Averrhoa bilimbi* L.)

5.1.1. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan. Determinasi tanaman belimbing wuluh dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan spesies (*Averrhoa bilimbi* L.) dari family Oxalidaceae

5.1.2. Pengambilan Dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh. Kemudian dilanjutkan dengan sortasi bahasa, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering sehingga didapat berat sampel sebesar 300 gr

5.1.3. Ekstraksi

Dalam proses ekstraksi daun belimbing wuluh pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan metanol sebagai pelarut. Ekstrak kental daun belimbing wuluh yang diperoleh sebanyak 28,125 gram dari 300 serbuk simplisia daun belimbing wuluh dan rendemen yang didapat sebanyak 12,32% pada ekstrak. proses pembuatan ekstrak pada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 3 dan perhitungan % rendemen dapat dilihat pada lampiran 4

Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak Kental	Rendemen
300 Gram	36,98 gram	12,32 %

5.1.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada masing masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apasaja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan , daun belimbing wuluh memiliki golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol yang dapat dilihat pada tabel 5.2. Hasil dari pengujian skrining fitokimia dapat dilihat di lampiran 5

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Senyawa	Kesimpulan
Alkoloid	(-)
Flavonoid	(+)
Tanin	(++)
Saponin	(+++)
Fenolik	(+++)

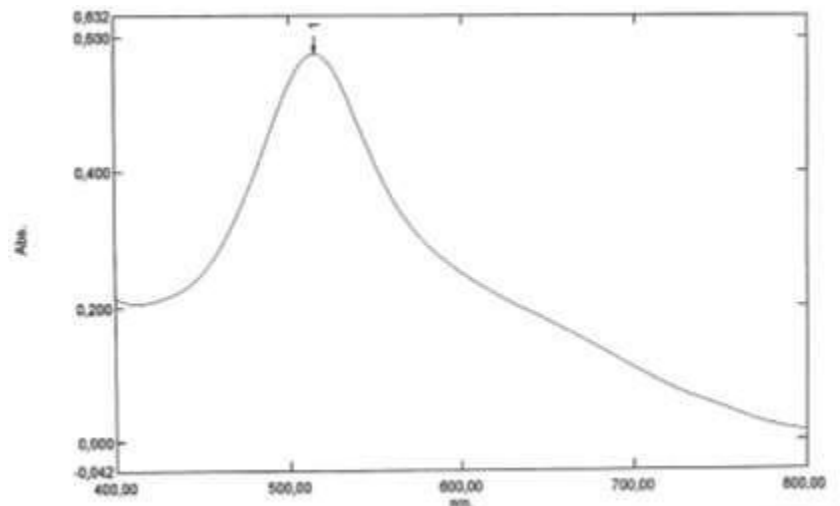
(-) = negatif, (+) = positif, (++) = positif kuat, (+++) = positif sangat kuat

5.2. Hasil nilai inhibisi konsentrasi (IC_{50}) dari Kuersetin

5.2.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Serapan maksimum menunjukkan hasil 0,576

pada panjang gelombang 0,515 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1 dan lampiran 6



Gambar 5.1 Grafik Panjang Gelombang

5.2.2. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan zat untuk bereaksi secara optimum, sehingga menghasilkan serapan yang stabil (Luginda *et al*, 2018). Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi senyawa uji dengan senyawa DPPH. Hasil optimasi waktu inkubasi larutan kurasetin dan larutan ekstrak dalam metanol diperoleh optimasi waktu terbaik pada menit ke 30. dengan cara menambahkan DPPH. Hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada lampiran 7

5.2.3. Hasil pengukuran absorbansi kuersetin

Pengujian kuersetin dilakukan inkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang 0,515 nm sesuai dengan optimasi yang

sudah dilakukan. Hasil pengujian dihitung untuk mencari % inhibisi. Hasil absorbansi kuersetin bisa dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3. Hasil % Inhibisi kuersetin

Sampel	Konsentrasi	% Inhibisi			IC ₅₀	kategori
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Kuersetin	10	35,216	39,171	41,619	22,357	Sangat kuat
	20	46,139	49,341	50,847		
	30	55,367	57,438	58,192		
	40	62,335	63,841	64,595		
	50	65,536	66,101	66,667		

5.3. Hasil nilai inhibisi kosentrasi (IC₅₀) ekstrak metanol daun belimbing wuluh

5.3.1. Optimasi waktu inkubasi ekstrakn metanol belimbing wuluh

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan zat untuk bereaksi secara optimum, sehingga menghasilkan serapan yang stabil (Luginda *et al*, 2018). Pengujian ekstrak metanol daun blimbing wuluh dilakukan inkubasi selama 30 menit dan kurasetin diukur pada panjang gelombang 0,515 nm sesuai dengan optimasi yang sudah dilakukan. Hasil dari pengujian dihitung untuk mencari % inhibisi. absorbansi ekstrak dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.4. Hasil % Inhibisi ekstrak daun belimbing wuluh

Sampel	Konsentrasi	% Inhibisi			IC ₅₀	Kategori
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Ekstrak	50	41,808	42,662	43,344	145,437	Sedang
	100	44,368	47,781	49,488		
	150	49,317	51,194	53,242		
	200	53,754	54,778	54,778		
	250	54,778	56,655	55,631		

5.4. Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Kurasetin Dan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh

Hasil dari IC₅₀ yang diperoleh pada kuersetin dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh dilakukan analisis menggunakan uji analisis statistika dengan SPSS v.26. Uji yang pertama dilakukan adalah uji normalitas *Saphiro-wilk* dengan hasil yang didapat *P*-value untuk kuersetin 0,752 dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh 0,635, jika nilai *P* yang didapat kuersetin dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang didapatkan $P > 0,05$ maka hasil analisis terdistribusi normal yang dapat dilihat pada lampiran 10. Uji normalitas dilanjutkan dengan uji analisis *T-Independent* yang dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 5.5 Hasil Nilai Uji Analisis T-Independent

Sampel	Replikasi			X $\pm$ SD	Sig.(2-tailed)	Kategori
	1	2	3			
Kuersetin	25,158 μ g/mL	21,913 μ g/mL	20 μ g/mL	22,357 $\pm$ 2,60 μ g/mL	0,000	Sangat kuat
Ekstrak	166,803 μ g/mL	141,157 μ g/mL	128,352 μ g/mL	145,437 $\pm$ 19,579 μ g/mL	0,000	Sedang

Dari hasil pengujian statistik didapatkan nilai sig. *Levene's Test For Equality Of Variance* adalah $0,082 > 0,05$ maka dapat diartikan bahwa varians data antara kuersetin dan ekstrak tidak homogen atau tidak sama dan independen sampel test nilai sig. *Levene's Test For Equality Of Variance* sebesar $0,000 < 0,05$ maka untuk H0 ditolak dan untuk H1 diterima.

BAB 6 HASIL PENELITIAN

6.1. Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing

Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

6.1.1. Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap penelitian yang dimulai dengan pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan larutan DPPH, optimasi panjang gelombang, optimasi waktu inkubasi, pembuatan larutan ekstrak pembuatan larutan pembanding kuerasetin dan pengukuran aktivitas antioksidan. Determinasi pada penelitian ini dilakukan di Politeknik Negeri Jember, penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia dan laboratorium biologi Universitas dr. Soebandi Jember dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV Vis biobase.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Sebanyak 2,5 kg daun belimbing wuluh yang di sortasi basah untuk memisahkan adanya pengotor dan bagian tanaman yang tidak diinginkan dalam penelitian, selanjutnya daun belimbing wuluh dicuci dengan air yang mengalir dan diangin-anginkan selama 5 hari. pengeringan dilakukan untuk menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan penguraian atau perubahan kandungan kimia pada daun belimbing wuluh (Riansyah *et al*, 2015). Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing Seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan, selanjutnya sampel dihaluskan dengan cara diblender sampel dihaluskan untuk memperkecil luas permukaan

sehingga penarikan senyawa dalam sampel pada proses ekstraksi lebih maksimal. Serbuk simplisia yang didapat sebanyak 300 gram.

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi pada serbuk simplisia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. metode maserasi dilakukan dengan merendam bagian tanaman dalam pelarut pada suhu kamar sekurang-kurangnya dilakukan selama 3 hari dengan beberapa pengadukan sehingga semua sampel larut dalam pelarut buka kurung menurut (Endarini, 2016). Metode maserasi dipilih karena proses ekstraksi menggunakan cara panas dapat merusak senyawa yang bersifat termolabil seperti flavonoid metode ini juga memiliki nilai yang cukup ekonomi dan mudah dilakukan (Riwayati *et al*, 2020). Dalam penelitian ini menggunakan metanol sebagai pelarut dikarenakan pelarut metanol bersifat polar sehingga mampu mengekstraksi senyawa kimia yang terdapat pada daun belimbing wuluh, pelarut metanol juga memiliki kelebihan dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar sehingga sangat baik mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel yang digunakan (Marfel *et al*, 2016). Ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 26,98 gram dari 300 gram serbuk daun belimbing wuluh (rendemen 12,32%). Rendemen ekstrak adalah perbandingan bobot ekstrak metanol daun belimbing wuluh dengan bobot simplisia. Rendemen ekstrak yang tinggi menunjukkan bahwa jumlah daun belimbing wuluh yang tersari dari simplisia tinggi (Maulida *et al*, 2015). Rendemen produk

berkaitan dengan metode ekstraksi dan pelarut yang dipakai untuk memisahkan senyawa kimia. Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi daun belimbing wuluh dikatakan baik karena nilainya melebihi dari 10% (Anjaswati *et al.* 2021)

6.1.2. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian skrining fitokimia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun belimbing

Uji golongan Alkaloid dengan cara mengambil 2 mL ekstrak diuapkan di atas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 2 mL HCl 1% ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff. Pada pereaksi Dragendorff akan terbentuk endapan berwarna jingga yang menandakan positif adanya alkaloid (Rahman *et al.*, 2019). Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol daun belimbing wuluh tidak mengandung senyawa alkaloid dengan terbentuknya warna hijau dan tidak terdapat endapan pada larutan (Lampiran 4).

Uji golongan flavonoid dengan cara mengambil sebanyak 1 mg larutan uji ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ dan diaduk dengan kuat sampel mengandung flavonoid jika berwarna kuning (Depkes RI, 2014). Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna kuning (Lampiran 4)

Uji golongan tanin dengan cara mengambil sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Minarno, 2015). Hasil sekrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol daun belimbingf wuluh mengandung senyawa tanin dengan terbentuknya warna hitam kehijauan (Lampiran 4)

Uji golongan dengan cara mengambil sebanyak 2-3 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuatkuat selama 10 detik lalu ditambahkan 2-3 tetes HCl. Jika terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit menunjukan adanya saponin (Rahman *et al*, 2019). Hasil sekrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol daun belimbingf wuluh mengandung senyawa saponin dengan terbentuknya buih selama $\pm$ 10 menit (Lampiran 4)

Uji golongan fenolik dengan cara mengambil sebanyak 5 mg ekstrak daun belimbing wuluh ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna coklat sampai kehitaman (Lemak *et al*, 2016). Hasil sekrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol daun belimbingf wuluh mengandung senyawa fenolik dengan terbentuknya warna hitam (Lampiran 4)

Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh terdapat senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan

oleh Surialaga *et al*, (2013) yang menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun belimbing wuluh mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik. senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai penangkap radikal karena adanya gugus hidroksil yang terkandung dapat mendonorkan atom hidrogen sehingga radikal bebas akan bersifat stabil

6.2. Analisa Nilai Inhibisi Kosentrasi (IC_{50}) Kuersetin

Uji aktivitas antioksidan terdiri atas metode *in vivo* dan *in vitro*. Para peneliti lebih mengembangkan metode *in vitro* karena metode *in vivo* membutuhkan waktu pengerjaan yang lama. Metode antioksidan secara *in vitro* terbagi menjadi metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), xantin oksidase, tiosianat, dan deoksiribosa (Sharma, 2014). Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang diujikan terhadap ekstrak metanol daun belimbing wuluh. Metode DPPH merupakan pengukuran penangkal radikal bebas sintetik dalam pelarut organik pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Proses penangkalan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu electron dari antioksidan. Metode ini juga merupakan pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok bagi pelarut etanol dan metanol (Rochmantika *et al*, 2012). Metode DPPH ini mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya mudah, sederhana, cepat, reproduibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Metode DPPH

digunakan untuk memberikan informasi mengenai potensi antioksidan golongan senyawa yang diuji terhadap suatu radikal bebas yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} (Muhammad Deky Satria, 2013). Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan menggunakan penelitian milik Brand Williams (2014) yang dimodifikasi, larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 1,25 mg dilarutkan dengan 25 ml metanol PA dalam labu ukur.

Dalam penelitian ini dilakukan penentuan panjang gelombang serapan maksimum dpph yang bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang pada saat senyawa yang diukur dapat memberikan absorbansi yang paling optimal. menurut penelitian (Mustiqawati *et al*, 2022) yang telah dilakukan pada spektrofotometri Uv-vis dengan panjang gelombang 517. Sedangkan pada penelitian ini penentuan panjang gelombang serapan maksimum menggunakan dpph dengan larutan kontrol yaitu metanol dilakukan pada panjang gelombang visible yaitu 400-800 nm yang menunjukkan hasil serapan pada panjang gelombang 515 nm. Panjang gelombang ini berbeda dari teori dikarenakan perbedaan kondisi percobaan yang dilakukan, perubahan tersebut dapat berupa instrumen, waktu pengukuran pelarut, iklim maupun individu yang melakukan (Sadeli, 2016)

Kemudian dibuat larutan stok 200 ppm kuersetin dengan cara menimbang sebanyak 2 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan metanol PA sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10

ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL (Brand Williams, 2014).

Selanjutnya dilakukan pengujian untuk menentukan waktu inkubasi optimum. Pengujian dilakukan dengan memipet 300 μ l larutan sampel dari satu konsentrasi (30 ppm untuk kuersetin dan 100 ppm untuk ekstrak) kemudian ditambahkan dengan larutan 600 μ l DPPH hingga homogen. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi tiap 5 menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 60 (Firdiyansari *et al*, 2019). Dari hasil waktu inkubasi optimum yang didapat pada menit ke-30 untuk ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada lampiran 6 dimana grafik absorbansi mulai stabil pada menit ke-30.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan memipet 300 μ l larutan sampel dari berbagai konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Kemudian ditambahkan dengan larutan 600 μ l DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 515 nm (Brand Williams, 2014).

Penelitian selanjutnya dilakukan perhitungan % inhibisi berdasarkan perbandingan antara radikal DPPH dengan larutan sampel (Rahmayani., 2013). Parameter yang dipakai untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC_{50} (inhibitor concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Hasil nilai

pengujian kuersetin replikasi 3 kali didapat nilai IC_{50} kuersetin sebesar 22,357 ppm termasuk dalam kategori sangat kuat

6.3. Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi (IC_{50}) Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)

Parameter yang dilakukan dalam Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah IC_{50} dimana nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan.

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang ekstrak metanol daun belimbing wuluh sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol PA sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm (Brand Williams, 2014).

Selanjutnya dilakukan pengujian untuk menentukan waktu inkubasi optimum. Pengujian dilakukan dengan memipet 300 μ l larutan sampel dari satu konsentrasi (30 ppm untuk kuersetin dan 100 ppm untuk ekstrak) kemudian ditambahkan dengan larutan 600 μ l DPPH hingga homogen. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi tiap 5 menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 60 (Firdiyansari *et al*, 2019). Dari hasil waktu inkubasi optimum yang didapat pada menit ke-30 untuk ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada lampiran 6 dimana grafik absorbansi mulai stabil pada menit ke-45.

Pengujian aktivitas dilakukan dengan memipet 300 μ l larutan sampel dari berbagai konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm dan 250 ppm untuk ekstrak. Kemudian ditambahkan dengan larutan 600 μ l DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 515 nm (Brand Williams, 2014).

Selanjutnya dilakukan perhitungan % Inhibisi bisa dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel (Rahmayani., 2013). Parameter yang dipakai untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC_{50} (Inhibitor Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapat dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dihitung dengan rumus pada lampiran 9

Berdasarkan Hasil nilai pengujian ekstrak metanol daun belimbing wuluh replikasi 3 kali menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki masuk dalam kategori sedang dengan hasil nilai rata-rata IC_{50} sebesar 145,437

6.4. Analisis Perbandingan Nilai Inhibisi Konsentrasi (IC_{50}) Kuersetin dan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wulu

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mustiqawat, (2022) dapat dilihat bahwa hasil uji aktivitas ekstrak metanol daun belimbing wuluh dimana ekstrak tersebut memiliki nilai IC_{50} sebesar 288.82 mg/mL. Sifat antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh termasuk golongan

antioksidan sangat lemah. Sedangkan menurut penelitian Hasanuzzaman (2013) ekstrak metanol buah belimbing wuluh sebesar 65,16 µg GAE/mg dengan kategori kuat. Penelitian ini memiliki hasil rata-rata IC₅₀ ekstrak metanol daun belimbing wuluh 145,437 ppm yang termasuk dalam kategori sedang dan 22,357 ppm untuk perbandingan kuersetin dengan kategori sangat kuat dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin kecil nilai IC₅₀ maka akan semakin besar nilai aktivitas antioksidan.

Menurut Ghazali (2012) Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model regresi, variabel pengganggu atau residual memiliki distribusi normal. Berfungsi untuk mengetahui apakah suatu data terdistribusi secara normal atau tidak, dapat dilakukan dengan pengujian normalitas menggunakan one sample kolmogorov-smirnov test pada residual persamaan dengan kriteria pengujian jika probability value > 0,05 maka data terdistribusi normal dan jika probability value < 0,05 maka data terdistribusi tidak normal, dalam hasil uji statistik yang pertama dilakukan adalah uji normalitas *Saphiro-wilk* dengan hasil yang didapat Sig untuk kuersetin 0,752 dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh 0,635, jika nilai Sig yang didapat kuersetin dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang didapatkan probability value > 0,05 maka hasil analisis terdistribusi normal.

Selanjutnya hasil pengujian statistik didapatkan nilai sig. *Levene's Test For Equality Of Variance* adalah 0,082 > 0,05 maka dapat diartikan bahwa varians data antara kuersetin dan ekstrak tidak homogen atau tidak

sama dan independen sampel test nilai sig. *Levene's Test For Equality Of Variance* sebesar $0,000 < 0,05$ maka untuk H_0 ditolak dan untuk H_1 diterima.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

- 1) Uji skrining fitokimia pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik
- 2) Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin menggunakan metode dpph menunjukkan aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan rata-rata $22,357 \pm 2,60 \mu\text{g/mL}$
- 3) Pengujian aktivitas antioksidan IC_{50} dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh menggunakan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan sedang dengan rata-rata $145,437 \pm 19,579 \mu\text{g/mL}$
- 4) Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan ekstrak di karena kuersetin merupakan isolat yang hanya terdiri dari satu golongan senyawa saja dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan pada ekstrak lebih rendah karena memiliki berbagai golongan senyawa yang aktivitas antioksidannya belum diketahui secara pasti

7.1. Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak metanol daun belimbing wuluh
- 2) Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin.

- 3) Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh.
- 4) Perlu dilakukan perbandingan aktivitas antioksidan metanol daun belimbing wuluh.dengan sumber antioksidan selain kuersetin

DAFTAR PUSTAKA

- Hutasoit, G. M. (2020). Gambaran Penyakit Degeneratif Pasien Di Puskesmas Tanjung Marulak Kota Tebing Tinggi Tahun 2018.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan*. Deepublish. CV Budi Utama. Yogyakarta
- Werdhasari, A. (2014). Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68.
- Situmorang, N. B., Marpaung, D. M., Aminah, A., & Marbun, R. A. T. (2020). A Efektivitas Formulasi Sediaan Sabun Mandi Padat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Sebagai Pelembab Kulit. *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 2(2), 50-55.
- Taufiq, H. (2017). Potensi Fraksi-fraksi dari Ekstrak Tanaman yang dikenal sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 3(1).
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86-93.
- Andini, A. (2020). *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus* (Doctoral dissertation, Stikes Insan Cendekia Medika Jombang).

- Rahmawati, D., & Dwi, M. P. (2018). Daya Hambat Ekstrakbuah Belimbing Wuluh Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Pyogenes* Secara In Vitro (Doctoral dissertation, Jurusan Analis Kesehatan).
- Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 4(1), 41-46..
- Minarno, E. B. (2015). Skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah carica pubescens lenne & k. koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 5(2), 73-82.
- Hidayati, R., Restapaty, R., & Sayakti, P. I. (2021). Pemberian Edukasi Bahaya Radikal Bebas melalui Pengolahan Minuman Kesehatan Lidah Buaya pada Penghuni Rumah Yatim Ar-Rohmah Banjarbaru Kalimantan Selatan. *Mitra Mahajana: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(2), 170-176.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Deepublish.
- Widyasari, N. (2017). Hubungan karakteristik responden dengan resiko diabetes melitus dan dislipidemia kelurahan tanah kalikedinding. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 5(1), 130-141.

Dungir, S. G., Katja, D. G., & Kamu, V. S. (2012). Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 11-15.

FIRDIYANSARI, I. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etanol Herba Apu-Apu (Pistia Stratiotes) dan Fraksi-Fraksinya* (Doctoral dissertation, FAKULTAS FARMASI).

Satria, M. D. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan Buah Lakum (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1)

Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) RM Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharmaceutical sciences and research*, 1(2), 3.

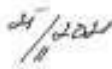
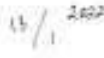
Maryam, S., Baits, M., & Nadia, A. (2015). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 115-118.

Winaningrum, D. E. (2019). Pengaruh Penambahan Gula Dan Larutan Blanching Terhadap Aktivitas Antioksidan, Kadar Flavonoid Dan Tingkat Kesukaan Serbuk Temu Ireng Instan (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) (Doctoral dissertation, Universitas Mercu Buana Yogyakarta).

- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P.(2017). Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH
- Kurniawati, I. F., & Sutoyo, S. (2021).Review Artikel: Potensi Bunga Tanaman Sukun (Artocarpus Altilis [Park. I] Fosberg) Sebagai Bahan Antioksidan Alami Article Review: The Potention Of Breadfruit Flowers (Artocarpus Altilis [Park. I] Fosberg) As Natural Antioxidant.
- Setyawati, A. (2020). Sintesis dan Uji Aktivitas Nooanoemulsi Ekstrak Etanol Lengkuas Merah (Alpinia purpurata (Vieill) K. Schum) sebagai Antibakteri Klebsiella pneumoniae.
- Inayah, P. W. (2015). Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, Dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L) In Vitro.
- Mustiqawati, E., Supardi, S., & Juniadin, J. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi). *Jurnal Sains & Kesehatan*, 1(1), 11-15.
- Andriani, R. V. (2018). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (Annona Muricata L) terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella *Dysenteriae* (Doctoral dissertation, Stikes Insan Cendekia Medika Jombang).mi
- Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.

Ikrom, I., TR, D. A., & Wasito, W. (2014). The in Vitro Study: Anti Aeromonas Hydrophila of Ethanol Extract of Kamboja Leaves (Plumeria Alba). *Indonesian Journal of Veterinary Science*, 32(1), 140074.

Lampiran 1

 UNIVERSITAS dr. SOEBANDI FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS Jl. Dr. Soebandi No. 99 Jember, Telp./Fax. (0331) 483534, E-mail : info@soebandi.ac.id Website : http://www.stikandi-soebandi.ac.id	
FORM USULAN JUDUL PENELITIAN	
Nama Mahasiswa	: Aldi Guzwanto
NIM	: 18040007
Usulan Judul Penelitian	:
"PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN BELIMBING WULUH (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)"	
Pembimbing I	: Lulut Sasmito, S.Kep.,Ns.,M. Kes
Pembimbing II	: apt. Sholihatil hidayati, M. Farm
Menyatakan bahwa Usulan Judul Penelitian (Skripsi) mahasiswa tersebut di atas telah mendapat rekomendasi dari kedua pembimbing untuk dilanjutkan menjadi proposal penelitian.	
Pembimbing I  (Lulut Sasmito, S.Kep.,Ns.,M. Kes)	Tanggal 
Pembimbing II  (apt. Sholihatil hidayati, M. Farm)	Tanggal 
Mengetahui, Komisi Bimbingan  (Altyah Purwanti, M. Si)	Tanggal 

Lampiran 2 hasil determinasi tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
 Revisi : 0



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

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 175/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 3150/FIKES.UDS/U/IX/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Aldi Guswanto
 NIM : 18040007
 Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:

Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnolopsida; Sub Kelas: Rosidae; Ordo: Geraniales; Famili: Oxalidaceae; Genus: Averrhoa; Spesies: Averrhoa bilimbi, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 19 September 2022

Ko. UPA, Pengembangan Pertanian Terpadu



R. Rudi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
 NIP. 197106212001121001

Lampiran 3 dokumentasi penelitian



Daun belimbing wuluh



Simplisia serbuk



Prosesd Maserasi



Penyaringan ekstrak



Pengentalan Ekstrak



Pengentalan Ekstrak



Hasil Ekstrak



Sampel Pengujian Optimasi Inkubasi

Lampiran 4 Perhitungan rendemen ekstrak

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

$$\text{Rendemen} = \frac{36,98 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% = 12,32 \%$$

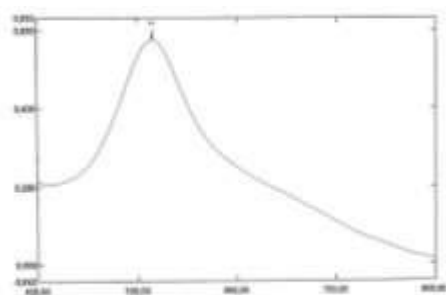
Lampiran 5 Skrining fitokimia



Lampiran 6 grafik panjang gelombang



Gambar Instrumen Spektrofotometri UV-Vis



Grafik panjang gelombang DPPH (50ppm)

Lampiran 7 perhitungan larutan dan hasil absorbansi optimasi inkubasi

- **pehitungan larutan DPPH**

$$\begin{aligned} 5 \text{ mg DPPH dilakukan pada } 100 \text{ mL metanol pa} &= \frac{5 \text{ mg} \times 1000 \text{ mL/L}}{100 \text{ mL}} \\ &= 50 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- **Perhitungan Sampel Ekstrak daun Belimbing Wuluh**

Larutan induk = 10 mg ekstrak dilarutkan pada etanol pa 10 mL

$$\begin{aligned} \text{Kosentrasi larutan induk} &= \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan untuk memperoleh kosentrasi 100 ppm

$$\text{Pengenceran} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

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

- **-Perhitungan larutan kurasetin**

Larutan induk = 2 mg kurasetin dilarutkan pada etanol pa 10 mL

$$\begin{aligned} \text{Kosentrasi larutan induk} &= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} \\ &= 200 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 100 ppm

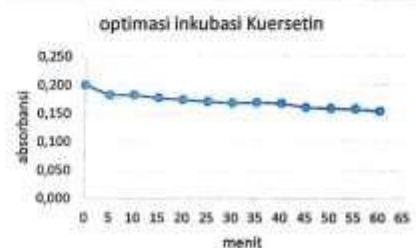
Pengenceran = $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$$

Data absorpsi optimasi waktu inkubasi yang dihasilkan spektrofotometri

UV-VIS untuk kurasetin dan ekstrak dari menit ke-0 sampai ke-6

menit	abs. ekstrak	abs. Kuersetin	rata ekstrak	rata kuersetin
0	0,244	0,231	0,271	0,200
	0,296	0,206		
	0,274	0,164		
5	0,235	0,198	0,260	0,182
	0,283	0,202		
	0,262	0,147		
10	0,234	0,200	0,258	0,182
	0,280	0,200		
	0,261	0,146		
15	0,234	0,195	0,258	0,177
	0,279	0,196		
	0,260	0,140		
20	0,229	0,193	0,254	0,174
	0,276	0,193		
	0,256	0,136		
25	0,229	0,188	0,254	0,171
	0,277	0,191		
	0,255	0,133		
30	0,225	0,187	0,250	0,168
	0,273	0,189		
	0,251	0,129		
35	0,225	0,188	0,249	0,169
	0,273	0,190		
	0,249	0,128		
40	0,226	0,186	0,249	0,167
	0,272	0,189		
	0,250	0,125		
45	0,225	0,180	0,248	0,160
	0,271	0,182		
	0,248	0,117		
50	0,223	0,179	0,245	0,158
	0,267	0,181		
	0,245	0,115		
55	0,222	0,179	0,243	0,157
	0,266	0,179		
	0,242	0,113		
60	0,220	0,175	0,241	0,153
	0,263	0,174		
	0,240	0,110		



Lampiran 8 Perhitungan Larutan dan Absorbansi Pengujian Antioksidan

- **Perhitungan Larutan Kuersetin**

Dari larutan induk kurasetin 200 ppm, diencerkan hingga memperoleh konsentrasi

$$\text{Pengenceran} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

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

- $20 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$

- $30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$

- $40 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$

- $50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$

- **Perhitungan Larutan Ekstrak**

Dari larutan induk kurasetin 200 ppm, diencerkan hingga memperoleh konsentrasi

$$\text{Pengenceran} = V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

- $50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$
- $100 \text{ ppm} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$
- $150 \text{ ppm} = \frac{150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 1,5 \text{ mL}$
- $200 \text{ ppm} = \frac{2000 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$
- $250 \text{ ppm} = \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{200 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$

- **Data absorbansi pengujian antioksidan yang dihasilkan spektrofotometri UV-Vis untuk kuersetin dan ekstrak pada menit ke-30**

Data kuersetin

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.531	
2	10ppm1	Unknown		*****	0.344	
3	10ppm2	Unknown		*****	0.323	
4	10ppm3	Unknown		*****	0.310	
5	10ppm4	Unknown		*****	0.295	
6	10ppm5	Unknown		*****	0.299	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	20ppm1	Unknown		*****	0.286	
2	20ppm2	Unknown		*****	0.261	
3	20ppm3	Unknown		*****	0.269	
4	20ppm4	Unknown		*****	0.248	
5	20ppm5	Unknown		*****	0.256	
6						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	30ppm1	Unknown		*****	0.237	
2	30ppm2	Unknown		*****	0.226	
3	30ppm3	Unknown		*****	0.222	
4	30ppm4	Unknown		*****	0.221	
5	30ppm5	Unknown		*****	0.215	
6						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	50ppm1	Unknown		*****	0.183	
2	50ppm2	Unknown		*****	0.180	
3	50ppm3	Unknown		*****	0.177	
4	50ppm4	Unknown		*****	0.173	
5	50ppm5	Unknown		*****	0.171	
6						

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	40ppm1	Unknown		*****	0.200	
2	40ppm2	Unknown		*****	0.192	
3	40ppm3	Unknown		*****	0.192	
4	40ppm4	Unknown		*****	0.188	
5	40ppm5	Unknown		*****	0.186	
6						

- Data ekstrak

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.586	
2	50ppm	Unknown		*****	0.341	
3	100ppm	Unknown		*****	0.326	
4	150ppm	Unknown		*****	0.297	
5	200ppm	Unknown		*****	0.271	
6	250ppm	Unknown		*****	0.265	
7	50ppm2	Unknown		*****	0.336	
8	100ppm2	Unknown		*****	0.306	
9	150ppm2	Unknown		*****	0.286	
10	200ppm2	Unknown		*****	0.265	
11	250ppm2	Unknown		*****	0.254	
12	50ppm3	Unknown		*****	0.332	
13	100ppm3	Unknown		*****	0.296	
14	150ppm3	Unknown		*****	0.274	
15	200ppm3	Unknown		*****	0.265	
16	250ppm3	Unknown		*****	0.260	
17	50ppm4	Unknown		*****	0.320	
18	100ppm4	Unknown		*****	0.273	



Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL515,0	Comments
19	150ppm4	Unknown		*****	0.259	
20	200ppm4	Unknown		*****	0.254	
21	250ppm4	Unknown		*****	0.249	
22	50ppm5	Unknown		*****	0.309	
23	100ppm5	Unknown		*****	0.275	
24	150ppm5	Unknown		*****	0.262	
25	200ppm5	Unknown		*****	0.254	
26	250ppm5	Unknown		*****	0.248	
27						

Lampiran 9 Perhitungan % Inhibisi Uji Antioksidan

- Perhitungan % inhibisi kurasetin

Replikasi 1			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10	0,531	0,344	35,216
20	0,531	0,286	46,139
30	0,531	0,237	55,367
40	0,531	0,200	62,335
50	0,531	0,183	65,536

Replikasi 2			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10	0,531	0,323	39,171
20	0,531	0,269	49,341
30	0,531	0,226	57,438
40	0,531	0,192	63,841
50	0,531	0,180	66,101

Replikasi 3			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10	0,531	0,310	41,619
20	0,531	0,261	50,847
30	0,531	0,222	58,192
40	0,531	0,188	64,595
50	0,531	0,177	66,667

Perhitungan % inhibisi ekstrak metanol daun belimbing wuluh

Replikasi 1			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,586	0,341	41,808
100	0,586	0,326	44,368
150	0,586	0,297	49,317
200	0,586	0,271	53,754
250	0,586	0,265	54,778

Replikasi 2			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,586	0,336	42,662

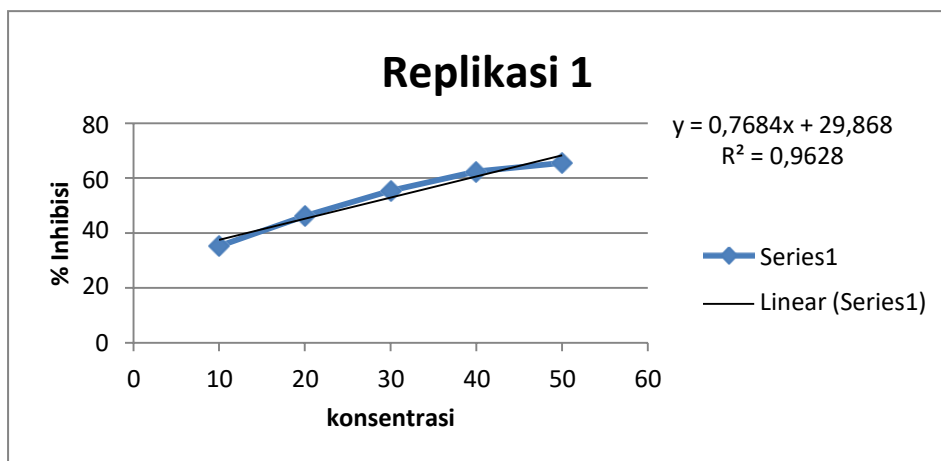
100	0,586	0,306	47,781
150	0,586	0,286	51,194
200	0,586	0,265	54,778
250	0,586	0,254	56,655

Lampiran 10 perhitungan IC₅₀ pengujian antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh dan kuersetin

- Perhitungan IC₅₀ kuersetin**

Replikasi 3			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,586	0,332	43,344
100	0,586	0,296	49,488
150	0,586	0,274	53,242
200	0,586	0,265	54,778
250	0,586	0,260	55,631

Konsentrasi	% Inhibisi
10	41,619
20	50,847
30	58,192
40	64,595
50	66,667



$$Y = bx + a$$

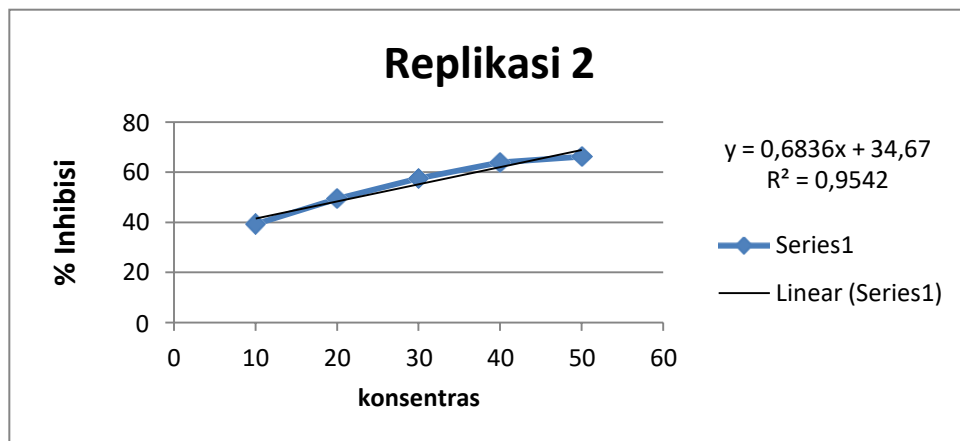
$$Y = 0,7683 x + 29,868$$

$$50 = 0,7683 x + 29,868$$

$$50 - 29,868 : 0,7683 x$$

$$X = 26,2 \mu\text{g/mL (sangat kuat)}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
10	39,171
20	49,341
30	57,438
40	63,841
50	66,101



$$Y = bx + a$$

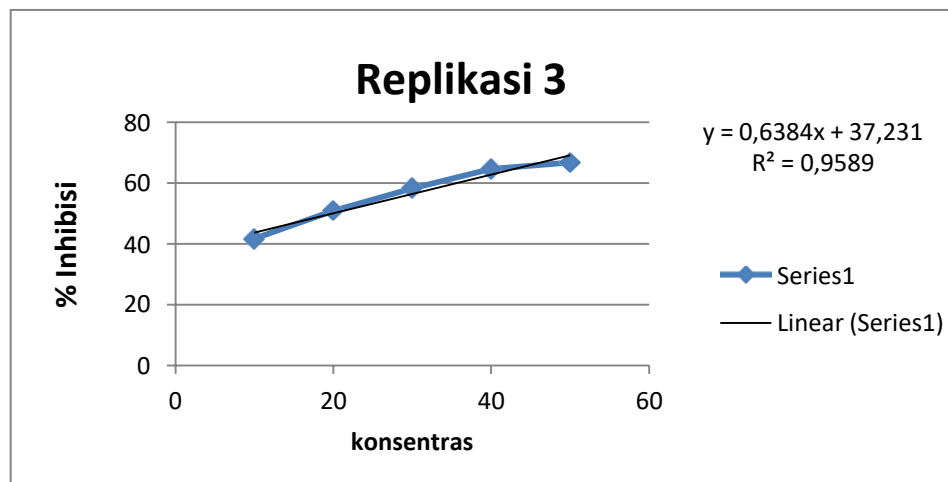
$$Y = 0,6836x + 34,67 \quad y = 0,6836x + 34,67$$

$$50 = 0,6836x + 34,67$$

$$50 - 34,67 : 0,6836x$$

$$X = 22,4 \mu\text{g/mL (sangat kuat)}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
10	41,619
20	50,847
30	58,192
40	64,595
50	66,667



$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,6384x + 37,231$$

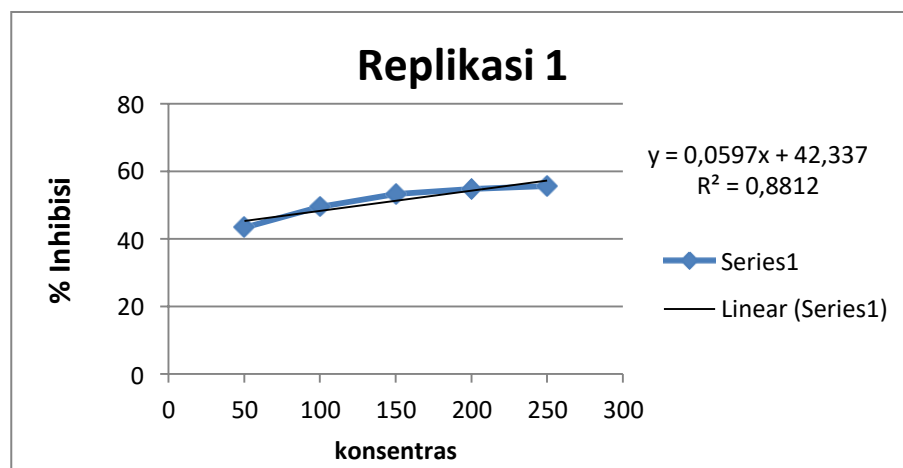
$$50 = 0,6384x + 37,231$$

$$50 - 37,231 : 0,6384x$$

$$X = 20 \mu\text{g/mL (sangat kuat)}$$

- **Perhitungan IC50 Ekstrak**

Konsentrasi	% Inhibisi
50	41,808
100	44,368
150	49,317
200	53,754
250	54,778



$$Y = bx + a$$

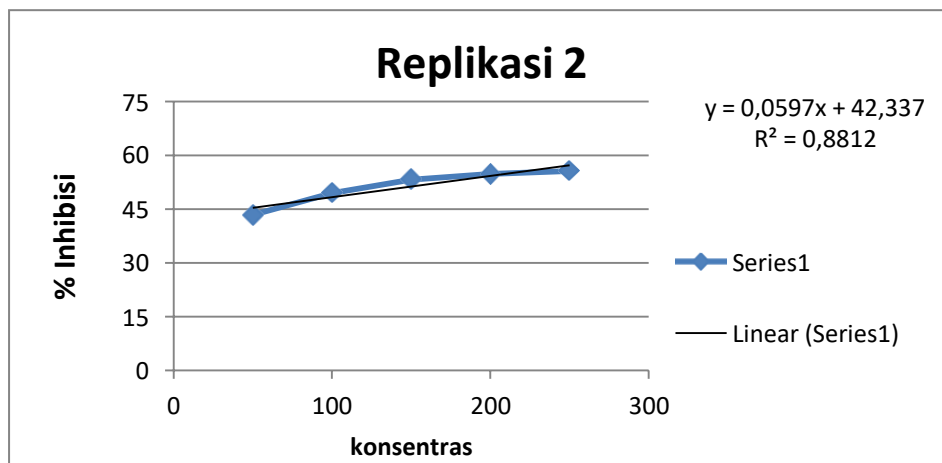
$$y = 0,0707x + 38,207$$

$$50 = 0,0707x + 38,207$$

$$50 - 38,207 : 0,0707x$$

$$X = 166,803 \mu\text{g/mL (lemah)}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
50	42,662
100	47,781
150	51,194
200	54,778
250	56,655



$$Y = bx + a$$

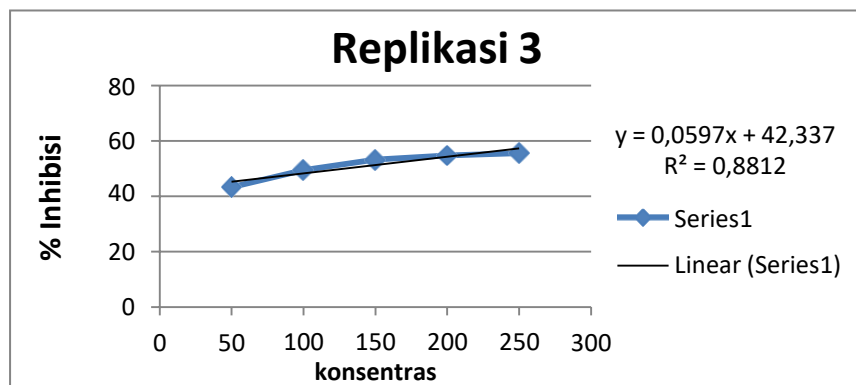
$$y = 0,07x + 40,119$$

$$50 = 0,07x + 40,119$$

$$50 - 40,119 : 0,07x$$

$$X = 141,157 \mu\text{g/mL (sedang)}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
50	43,344
100	49,488
150	53,242
200	54,778
250	55,631



$$Y = bx + a$$

$$y = 0,0597x + 42,337$$

$$50 = 0,0597x + 42,337$$

$$50 - 42,337 : 0,0597x$$

$$X = 128,358 \mu\text{g/mL (sedang)}$$

Lampiran 11 Hasil Uji Statistik

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kuersetin	.226	3	.	.983	3	.752
ekstrak	.253	3	.	.964	3	.635

a. Lilliefors Significance Correction

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper
IC50	Equal variances assumed	5.341	.082	-10.689	4	.000	-122.5333	11.4630	-154.3598 -90.7069
	Equal variances not assumed			-10.689	2.102	.007	-122.5333	11.4630	-169.6383 -75.4284

Lampiran 13 Curriculum Vite

CURICULUM VITE



A. Biodata Penelitian

Nama	: Aldi Guswanto
NIM	18040007
Tempat, Tanggal Lahir	: Oku Timur, 10 Agustus 2000
Alamat	: Dsn, Kebon Jati, Kecamatan Madang Suku II, Kabupaten Oku Timur
Jenis Kelamin	: laki-laki
Agama	: Islam
Nomer Telepon	085269398178
E-mail	: aldiguswanto@gmail.com
Status	: Mahasiswa

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN (2006-2012)
2. MTs Nurul A'la (2012-2015)
3. MA Nurul A'la (2015-2018)
4. S1 Farmasi Universitas Dr. Soebandi (2018-2022)

Lampiran 14 Dokumentasi Seminar Proposal

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL
DAUN BELIMBING WULUH (*Aveorrhia Bilimbi L.*) DENGAN
MTODE DPPH (1,1-Dipheyl-2-picryhidrazil)**

Prposal skripsi



Aldi Guswanto 18040007

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

The image shows a presentation slide for a seminar proposal. It includes the title of the research, the author's name and ID, the university logo, and the program details. On the right side, there is a vertical strip showing a video call interface with multiple participants' video feeds.

Lampiran 15 Dokumentasi Seminar Hasil

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL
DAUN BELIMBING WULUH (*Aveorrhia Bilimbi L.*) DENGAN
MTODE DPPH (1,1-Dipheyl-2-picryhidrazil)**

SKRIPSI



Aldi Guswanto 18040007

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

The image shows a presentation slide for a seminar result. It includes the title of the research, the word 'SKRIPSI' (Thesis), the university logo, and the program details. The layout is similar to the previous slide but with 'SKRIPSI' instead of 'Prposal skripsi'.