UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TANAMAN GENJER (Limnocharis flava) MENGGUNAKAN METODE DPPH

SKRIPSI



Oleh : Pryastika Socajiwa NIM 18040080

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

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TANAMAN GENJER (Limnocharis flava) MENGGUNAKAN METODE DPPH

SKRIPSI

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



Oleh : Pryastika Socajiwa NIM 18040080

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

LEMBAR PERSETUJUAN

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

Jember, 29 September 2022

Pembimbing Utama

<u>Gumlarti, S.ST., M.PH</u> NIDN. 4005076201

Pembimbing Anggota

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M. Farm. NIDN. 0703028901

iii

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*) Mengunakan Metode DPPH telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Kamis

Tanggal: 17 November 2022

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,

Sutrisno,S.ST.,M.M NIDN.40060355

Penguji II,

NIDN.40050766201

,M.PH.

Penguji III,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M. Farm NIDN. 0703028901

Mengesahkan,

ekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas dr. Soebandi

s. Hella Moddy

Tursina, S.Kep., M.Ke

NIDN. 0706109104

PERYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Pryastika Socajiwa

NIM : 18040080

Program Studi : Sarjana Farmasi

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

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 29 September 2022

Yang menyatakan



(Pryastika Socajiwa)

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TANAMAN GENJER (Limnocharis flava) MENGGUNAKAN METODE DPPH

Oleh:

Pryastika Socajiwa
NIM. 18040080

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Gumiarti, S.ST., M.PH.

Dosen pembimbing Anggota: apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M. Farm

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayahnya yang selalu memberikan kemudahan, petunjuk, keyakinan, dan kelancaran sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini saya persembahkan untuk :

- 1. Kepada kedua orang tua saya, Bapak Moch. Nur Afandi dan Mama saya yang tercintah Siti Nur Imamah yang sangat berjasa dalam hidup saya, serta keluarga besar terimakasih yang selalu memberikan doa, kasih sayang, nasihat, pengorbanan yang senantiasa memberikan kekuatan sehingga membuat segalanya terselesaikan dengan baik dan saya bisa sampai tahap dimana skripsi ini selesai.
- 2. Dosen pembimbing, Ibu Gumiarti, S.ST., M.PH. selaku dosen pembimbing utama, Ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm, selaku dosen pembimbing anggota, dan BapakSutrisno,S.ST.,M.M selaku dosen penguji saya yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
- Segenap Ibu dan Bapak Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalamanselama perkuliahan.
- 4. Teman teman kontrakan C2 patrang asri tercinta yang sudah menjadi sahabat dan penyemangat selama dalam perkuliahan ini.

- 5. Terimakasih juga kepada teman-temanku yang telah banyak menemani selama menempuh pendidikan farmasi di Universitas dr. Soebandi, canda, tawa, dan banyak momen yang telah kita lewati bersama.
- 6. Teman kuliah satu angkatan terutama kelas 18B Farmasi terimakasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses untuk kita semua.
- 7. Untuk diri saya sendiri terimakasih sudah berjuang dan bertahan sampai detikini, selalu bersabar menghadapi segala cobaan dan berusaha untuk bisa menyelesaikan tanggung jawab ini.

MOTTO

"Ilmu adalah investasi beharga untuk masa depan"

(Pryastika Socajiwa)

"Jika anda takut gagal, anda tidak pantas untuksukses."

(Charles Barkley)

"Barang siapa belum pernah merasakan pahitnya mencari ilmu walau sesaat, ia akan menelan hinanya kebodohan sepanjang hidupnya" (Imam Syafi'i)

"tahapan pertama dlam mencari ilmu adalah mendengarkan, kemudian diam dan menyimak dengan penuh perhatian, lalu menjaganya, lalu mengamalkannya dan kemudian menyebarkannya"

(Sufyan bin Uyainah)

ABSTRAK

Socajiwa, Pryastika*, Gumiarti**, Trianggaluh Fauziah, Dina***.2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer** (*Limnocharis flava*) **Menggunakan Metode DPPH.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi.
Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Antioksidan merupakan bahan yang dapat menghambat atau mencegah kerusakan akibat oksidasi dari radikal bebas. Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan. Mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer dan mengidentifikasi nilai aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental Laboratorium, dengan ekstraksi sokletasi. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer dilakukan dengan metode DPPH. Sampel ekstrak tanaman genjer dibuat dengan beberapa konsentasi. **Hasil penelitian**: Tterdapat senyawa tanin, flvonoid, terpenoid, saponin dan alkaloid yang dinyatakan positif dan nilai aktivitas antioksidan pada tanaman genjer tergolong kuat dengan nilai IC50 94,373 μg/mL. **Kesimpulan**: Tanaman genjer memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat.

Kata Kunci: Limnocharis flava, antioksidan, kuersetin, DPPH

^{*}Peneliti

^{**}Pembimbing 1

^{***}Pembimbing 2

ABSTRACT

Socajiwa, Pryastika*, Gumiarti**, Trianggaluh Fauziah, Dina***.2022. **Test**Antioxidant Activity Of Yellow Velvetleaf(*Limnocharis flava*)

Extract Using The DPPH Method . Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi.

Background: Antioxidant are substance that can inhibit or prevent damage caused by oxidation from free radicals. Yellow velvetleaf (*Limnocharis flava*) is one of the plant that is effective as an antioxidant. Identify the compound contained inyellow velvetleaf extract and identify antioxidant activity extract of yellow velvetleaf. **Method:** This research is a laboratory experimental research. Testing the antioxidant activity of yellow velvetleaf extracts was carried out using the DPPH methode. Yellow velvetleaf samples were made with several concentrations. **Result:** Contains tannin, flavonoid, terpenoid, saponin, alkaloid that are positif and antioxidant activity which is classified as a strong antioxidant with 94,373 μ g/mL value. **Conclutions:** Yellow velvetleaf have strong antioxidant activity.

Keywords: *Limnocharis flava*, antioxidant, quersetin, DPPH.

^{*}Authror

^{**}Advisor 1

^{***}Advisor 2

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala limpahan rahmat, taufik, dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*) Menggunakan Metode DPPH" dengan tepat waktu.

Penyusunan Skripsi ini dapat terlaksana dengan baik berkat bimbingan dari barbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Bapak Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., M.M selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
- Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kes selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
- Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
- 4. Ibu Gumiarti, S.ST., M.PH. Selaku Dosen Pembimbing Utama
- Ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M. Farm. Selaku Dosen Pembimbing Anggota
- Bapak Sutrisno, S., ST., M.M selaku Ketua Penguji
 Penulis tentu menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna.
 Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi Skripsi ini.

Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 29 September 2022

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.4.1.1 Bagi Peniliti	4
1.4.1.2 Bagi Instansi Farmasi	5
1.4.1.3 Bagi Masyarakat	5
1.4.1.4 Bagi Peneliti Selanjutnya	5
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Genjer(Limbocharis flava)	7

2.1.1	Klasifikasi Tanaman Genjer (Limbocharis flava)	7
2.1.2	Morfologi Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	8
2.1.3	Asal - usul Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	10
2.1.4	Syarat Tumbuh Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	10
2.1.5	Habitat Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	12
2.1.6	Manfaat Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	12
2.1.7	Kandungan Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	12
2.2.4	Faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa	17
	eori Aktivitas Antioksidan Pada Tanaman Genjer (<i>Limnocha</i> Metode DPPH	,
2.3.1	Definisi Antioksidan	18
2.3.2	Sumber Antioksidan	18
2.3.3	Mekanisme Antioksidan	19
2.3.4	Pengujian Aktivitas antioksidan dengan Metode DPPH	21
2.3.	4.1 Definisi DPPH	21
2.3.	4.2 Mekanisme DPPH	22
2.3.5	Nilai IC50	23
2.4 E	kstraksi	24
2.4.1	Definisi	24
2.4.2	Jenis-jenis Ekstraksi	24
2.4.3	Pelarut	26
2.5 In	strumen Spektrofotometer UV-Vis	27
2.5.1	Definisi	27
2.5.2	Jenis-jenis Spektrofotometer	27
2.5.3	Bagian Spektrofotometer	29
2.5.4	Prinsip Spektrofotometer	30
2.5.5	Syarat menggunakan	31
BAB 3 KE	CRANGKA KONSEPTUAL	33
3.1 K	erangka Konsep	33
3.2 H	ipotesis	34
BAB 4 MI	ETODOLOGI PENELITIAN	35
4.1 Je	enis Penelitian	35

4.2 Populasi dan Sampel	35
4.2.1 Populasi	35
4.2.2 Sampel	35
4.3 Lokasi Penelitian	35
4.4 Waktu Penelitian	36
4.5 Variabel Penelitian	36
4.5.1 Variabel Bebas	36
4.6 Definisi Operasional	36
4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data	37
4.7.1 Alat dan Bahan	37
4.7.2 Teknik Pengumpulan Data	38
4.7.2.1 Determinasi Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	38
4.7.2.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Tanaman (Limnocharis flava)	
4.7.2.3 Ekstraki Tanaman Genjer dengan Metode Sokletasi	38
4.7.2.4 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Tanaman Genjer	
4.7.2.5 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan dengan DPPH	
4.8 SOP (Standar Operasional Prosedur) Uji Aktivitas Antioksidan	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN	45
5.1 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanamar (Limnocharis flava)	
5.2 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman (Limnocharis flava)	J
BAB 6 PEMBAHASAN	47
6.1 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanamar (Limnocharis flava)	_
6.2 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman (Limnocharis flava)	
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	51
7.1 Kesimpulan	51
7.2 Saran	
DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Keaslian Penelitian	5
Tabel 3.1 Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	[23
Tabel 4. 1 Definisi Operasional	36
Tabel 4. 2 SOP (Standart Opersional Prosedur)	
Tabel 5. 1 Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Tanaman Genjer	45
Tabel 5. 2 Hasil Identifikasi Aktivita Antioksidan	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Genjer (Limnocharis flava)	7
Gambar 2.3 Diagram Alat Spektrofotometri UV-Vis (single beam)	28
Gambar 2.4 Skema Spektrofotometri UV-Vis (double-beam)	29
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	33

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralisir radikal bebas. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Radikal bebas telah diketahui mampu merusak struktur sel yang dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif yakni kanker, jantung koroner, stroke, gagal ginjal, diabetes mellitus, hipertensi dan proses penuaan manusia(Maryam, Baits and Nadia, 2016). Seiring bertambahnya usia, fungsi fisiologi manusia dapat mengalami penurunan akibat proses degeneratif, sehingga muncul banyak penyakit pada saat usia lansia. Prevalensi penyakit degeneratif menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, 2013 dan 2018 cenderung mengalami peningkatan seperti kanker 70%, penyakit jantung 4.5%, stroke 4.4%, gagal ginjal 0.8%, hipertensi 63.5%, diabetes mellitus 5.7% (Kementrian Kesehatan RI, 2019).

Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung secara terus menerus dalam tubuh dan menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak sel hidup(Silalahi, 2006).

Keberadaan radikal bebas secara berlebih dapat memicu terjadinya stres oksidatif yaitu dimana terjadi ketidak seimbangan jumlah oksidan dan prooksidan

dalam tubuh. Pada kondisi tersebut, aktivitas molekul radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel genetik (Wulandari *et al.*, 2013). Keadaan yang dapat terjadi dengan adanya radikal bebas adalah gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang bermutasi dan tidak dapat dikenali oleh sistem imun. Radikal bebas juga berpotensi merusak basa DNA dan mengacaukan sistem info genetika yang kemudian memicu terjadinya kanker (Wulandari et al, 2013). Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam proses metabolisme dalam tubuh (endogen) maupun dari sumber eksternal (eksogen) (Lobo *et al.*, 2010).

Keadaan di atas menyebabkan tubuh memerlukan asupan berupa antioksidan yang mampu menangkap dan menetralisir radikal bebas, sehingga reaksi lanjutan yang menyebabkan stres oksidatif dapat berhenti. Kurangnya asupan antioksidan dapat memicu terjadinya kerusakan jaringan karena produksi radikal bebas yang berlebih dari hasil metabolisme lemak dan protein yang tersimpan dalam tubuh. Dengan mencukupi kebutuhan antioksidan dapat meningkatkan status imunologi, menghambat penyakit degeneratif dan proses penuaan dini(Winarsi, 2007). Sumber antioksidan ada tiga macam yaitu antioksidan endogen, alami dan sintetik. Antioksidan endogen merupakan sistem enzim tubuh manusia sedangkan antioksidan sintetik berasal dari bahan kimia tetapi penggunaannya telah dibatasi karena bersifat karsiogenik dan menyebabkan tumor terhadap hewan coba(Erawati, 2012). Oleh karena itu dibutuhkan alternatif antioksidan berupa senyawa yang berasal dari alam agar kebutuhan antioksidan dapat tercukupi dengan baik.

Salah satu tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan adalah tanaman genjer (*Limbocharis flava*). Tanaman genjer (*Limbocharis flava*) merupakan tanaman yang hidup di tanah berair. Tanaman ini sering di anggap sebagai gulma. Tanaman ini memiliki kandungan gizi yang cukup baik diantaranya mineral, vitamin, karbohidrat, dan protein. Salah satu vitamin yang terkandung dalam genjer adalah vitamin C dan vitamin B1(Rahmawati and Sa'diyah, 2020). Hasil uji fitokimia pada genjer menunjukkan bahwa tanaman ini memilki senyawa bioaktif alkaloid, steroid, gula pereduksi dan flavonoid (Narwanti and Hamida, 2018).

Proses pengujian antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena metode ini terbukti lebih efisien, efektif, dan untuk ujinya sangat mudah, cepat dan sederhana untuk skrining aktivitas penangkapan radikal dari beberapa senyawa (Molyneux, 2004).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

- Mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman genjer (Limnocharis flava)?
- 2. Berapakah nilai IC50 pada ekstrak etanol tanaman genjer (*Limnocharis flava*) dengan menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) menggunakan metode DPPH.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1. Mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstraktanaman genjer (*Limnocharis flava*).
- Mengidentifikasi nilai aktivitas antioksidanekstraktanaman genjer (Limnocharis flava) mengunakan metode DPPH yang ditunjukkan dengan IC50.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber dan referensi dalam pengetahuan tentang kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tanaman genjer (*Limnocharis flava*) menggunakan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.1.1 Bagi Peniliti

Dapat mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak etanol tanaman genjer (*Limnocharis flava*) dengan menggunakan metode DPPH.

1.4.1.2 Bagi Instansi Farmasi

Penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai antioksidan, serta menjadi literatur atau referensi bagi mahasiswa lain.

1.4.1.3 Bagi Masyarakat

Sebagai sumber informasi bagi masyarakat mengenai sumber antioksidan dari tanaman obat tradisional sebagai alternatif (antioksidan luar) untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif.

1.4.1.4 Bagi Peneliti Selanjutnya

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber dan referensi bagi penelitian sejenis tentang pemanfaatan tanaman genjer sebagai antioksidan.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

No	Nama penulis	Tahun penulis	Judul penelitian	Persamaan	Perbedaan
1	Narwanti dan Hamida	2018	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksana, Kloroform dan Etil asetat Ekstrak Etanol Limnocharis flavaDengan Metode DPPH	 Menggunakan metode DPPH Menggunakan etanol 70% 	 Menggunakan metode ekstraksi maserasi Menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan kloroform
2	Nurjanah, et all	2014	Perubahan Komposisi kimia, aktivitas antioksidan, vitamin C, dan Mineral Tanaman Genjer (Limnocharis flava) Akibat Pengukusan	 Menggunakan tanaman genjer Menggunakan metode DPPH 	 Menggunakan tanaman genjer yang mengalami pengukusan. Menggunakan metode ekstraksi tunggal. Menggunakan pembanding BHT
3	(Dwi and Syam)	2017	Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap	Menggunakan metode ekstraksi sokletasi Menggunakan	Menggunakan daun kersen

Kadar Flavonoid Total Ekstrak	etanol 70%	
Etanol Daun		
Kersen		
(Muntingia		
calabura)		

BAB 2TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Genjer(Limbocharis flava)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Genjer (Limbocharis flava)



Gambar 2.1 Tanaman *Genjer (Limnocharis flava)* Sumber: Plantamor, 2019

Adapun klasifikasi tanaman genjer (*Limnocharis flava*) menurut (Perkasa and Petropoulous, 2020) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom: Traceobionta

Superdivisi : Sprermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Alismatidae

Famili : Limnocharitaceae

Genus : Limnocharis

Spesies : Limnocharis flava

2.1.2 Morfologi Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*)

a. Akar

Genjer termasuk kedalam tanaman monokotil, sehingga tanaman ini memiliki akar serabut. Akar lembaga dari tanaman ini dalam perkembangan selanjutnya mati atau kemudian disusul oleh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar dan semuanya keluar dari pangkal batang. Akar – akar ini karena bukan berasal dari calon akar yang asli yang dinamakan akar liar, bentuknya seperti serabut, oleh karena itu dinamakan akar serabut(Perkasa and Petropoulous, 2020).

b. Batang

Menurut (Perkasa and Petropoulous, 2020) batang genjer tersusun atas satu lapis jaringan epidermis yang terletak pada bagian luar. Epidermis pada batang genjer bersifat sebagai pelindung dengan bentuk yang tidak beraturan. Jaringan korteks terletak pada bagian dalam epidermis yang tersusun dari beberapa lapis sel berkloropas serta jaringan berpembuluh pengangkut yang tersebar. Tanaman genjer memiliki batang yang panjang, tebal, berisi berbentuk bulat dan berwarna hijau. Batang genjer termasuk kedalam batang basah (herba), karena batang ini cenderung mengandung air yang tinggi dan genjer tidak memiliki kambium, sehingga tanama genjer lunak dan mudah untuk dipotong. Panjang dari batang tanaman genjer sekitar 15 – 50 cm

c. Daun

Tanaman genjer termasuk kedalam kategori daun lengkap karena memiliki pelepah daun, tangkai dan helaian. Pada tanaman genjer tidak ditemukan daun tambahan, dan jumlah helaian daun tanaman ini termasuk pada kategori daun tunggal. Berdasarkan susunan tulang daun, tanaman genjer memiliki tulang daun yang melengkung yaitu daun yang susunan tulang daunnya melengkung. Bagian daun terlebar pada genjer terletakpada bagian tengah helaian daun. Ujung distal helai daun meruncing. Daun genjer mempunyai bentuk tangka persegi, lunak, panjang 15-25 cm, helai daun lonjong, ujung meruncing dan pangkal tumpul, tepi rata, panjang 5-25 cm, lebar 4-25 cm, pertulangan sejajar, berwarna hijau (Perkasa and Petropoulous, 2020).

d. Bunga

Tanaman genjer memiliki bunga yang yang mempunyai sifat seperti daun. Berdasarkan kelengkapan bunga, genjer termasuk kedalam bunga lengkap karena memiliki kelopak, benang sari, putik dan mahkota. Bunga tanaman genjer terletak di ketiak daun dengan panjang tangkai bunga sekitar 15 – 25 cm. Bunga genjer termasuk kedalam bunga majemuk yang terdiri dari 3 – 15 kuntum bunga, bentuk payung, panjang tangkai 15-25 cm, berwarna hijau, kelopak lepas, berbentuk kuku, jumlah benang sarinya 3, tangkai putik berwarna kuning sedangkan kepala putik berbentuk bulat. Mahkota bunga lepas, ujungnya melengkung kedalam berwarna kuning (Perkasa and Petropoulous, 2020).

e. Buah dan Biji

Buah yang dimiliki tanaman genjer adalah buah semu, yang artinya tumbuh dengan melibatkan jaringan lain ketika membentuknya. Buah tanaman genjer berbentuk bulat, berwarna hijau dan terletak pada tangkai tanaman dengan diameter sekitar 0.5 - 1.5 cm. Dalam satu kumpulan buah terdiri dari 5 - 6 buah didalamnya. Biji tanaman genjer berwarna hitamberbentuk bulat berukuran kecil yang terdapat didalam buah genjer dan dapat tumbuh menjadi tanaman baru (Perkasa and Petropoulous, 2020).

2.1.3 Asal - usul Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*)

Tanaman genjer (*Limbocharis flava*) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika, terutama pada bagian yang beriklim tropis. Di regional Asia Tenggara, tanaman genjer dapat ditemukan mulai dari Malaysia, Thailand, Burma dan Indonesia. Di indonesia tanaman genjer banyak ditemukan di Pulau Sumatra dan Pulau Jawa, terdapat di dataran rendah (Perkasa and Petropoulous, 2020).

2.1.4 Syarat Tumbuh Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*)

a. Curah Hujan

Tanaman genjer tumbuh di daerah yang tergenang air, sehingga air sangat penting bagi pertumbuhan genjer. Curah hujan yang dibutuhkan oleh tanaman ini untuk memperbaiki kualitas tumbuh yaitu 500 – 900 mm/tahun(Juliani, 2018).

b. Tanah

Genjer akan tumbuh baik jika ditanaman di tanah yang gambut berawa yang terdapat di kawasan rawa – rawa dan area persawahan. Area tersebut sangat kaya akan kandungan unsur hara alamiah yang di proses dari sisa – sisa pembusukan serat tanaman air. Kondisi lahan yang menyehatkan tanaman (tersedia banyak unsur hara penting) dapat mempengaruhi pertembuhan genjer (Juliani, 2018).

c. Suhu

Faktor suhu sangat menentukan untuk tumbuh kembang genjer serta menjaga agar suhu optimum yang ada pada lingkungan penanaman tetap terjaga dengan baik. Suhu yang baik yaitu diantara kisaran 15-25 °C dengan jumlah penyinaran cahaya matahari cukup yakni selama 8-12 jam sehari. Cahaya matahari sangat berperan penting dalam proses fotosintesis dan juga sebagai pemberi energi pada tanaman genjer. Tanaman genjer yang kekurangan cahaya matahari akan mengalami etiolasi yakni tanaman genjer akan tumbuh memanjang tidak sehat, tampak pucat, daun mudah kering dan menguning, rentan terserang penyakit, serta tanaman menjadi kurus dan organ tanaman nampak tidak sehat (Juliani, 2018).

d. Kelembapan Udara

Kelembapan udara yang ideal untuk budidaya tanaman genjer yaitu 70-80%, sebab kelembapan yang terlalu tinggi justru akan merangsang pertumbuhan jamur yang berada pada bagian batang basah genjer dan menimbulkan berbagai penyakit (Juliani, 2018).

e. Ketinggian Tempat

Tanaman genjer umumnya dapat tumbuh di daerah dataran rendah dengan ketinggian mencapai ±1300 m di atas permukaan laut(Juliani, 2018).

2.1.5 Habitat Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*)

Tanaman genjer (*Limbocharis flava*) merupakan salah satu tanaman akuatik yang tumbuh pada tempat yang lembab atau berair yang kemudian akan nampak pada permukaan. Genjer merupakan tanaman liar sejenis dengan kangkung, semanggi dan bopong yang tumbuh subur di area persawahan, rawa ataupun kolam berlumpur yang banyak airnya secara bebas (Perkasa and Petropoulous, 2020).

2.1.6 Manfaat Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

Tanaman genjer sering dianggap sebagai tanaman gulma, padahal tanaman ini mempunyai banyak manfaat. Tanaman genjer sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan olahan makanan. Tanaman genjer kaya akan serat dan mineral sehingga genjer memiliki manfaat bagi kesehatan seperti memperlancar pencernaan dan memperkuat tulang. Daun dan bunga tanaman genjer berkhasiat sebagai penambah nafsu makan. Tidak hanya itu, genjer juga bermanfaat dalam penyerapan logam berat dalam tanah. Tanaman genjer juga mempunyai komponen bioaktif flavonoid, steroid, polifenolyang dapat mencegah pertumbuhan radikal bebas (Perkasa and Petropoulous, 2020).

2.1.7 Kandungan Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

Tanaman genjer memiliki kandungan serat yang tinggi dan juga kaya akan unsur gizi.Dalam 100 g bagian yang dapat dimakan dari genjer terkandung protein 1 g, lemak 0,3 g, karbohidrat 0,5 g, vitamin A 5000 IU, vitamin B 10 IU dan nilai energi 38 kJ. Selain itu, genjer memiliki rasa yang manis dan menyediakan sumber mineral yang baik terutama K, Ca, Mg dan Cu. Genjer juga mempunyai

komponen biokatif diantaranyagula pereduksi, polifenol, flavonoid, hidrokuinon dan asam amino(Saupi *et al*, 2009).Hasil penelitian dari (Prasadhana, Arumsari and Kurniaty, 2019) menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung pada bagian daun tanaman genjer adalah flavonoid, fenol hidrokuinon, gula pereduksi, dan asam amino. Bagian batang tanaman genjer berupa flavonoid dan gula pereduksi.Sedangkan pada penelitian dari(Narwanti dan Hamida, 2018) menunjukkan bahwa tanaman ini senyawa alkaloid, steroid, gula peruksi dan flavonoid.Komponen bioaktif suatu tumbuhan mengalami perbedaan disebabkan beberapa faktor diantaranya faktor lingkungan seperi tinggi tempat, jenis tanah, iklim dan perbedaan metabolit sekunder yang ada pada tanah yang dipengaruhi oleh suhu, pH, aktivitas air dan intensitas cahaya(Prasadhana, Arumsari and Kurniaty, 2019)

2.2 Teori Senyawa yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

2.2.1 Definisi

Tumbuhan menghasilkan bermacam-macam golongan senyawa organik yang melimpah yang sebagian besar dari senyawa tersebut tidak tampak secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan tersebut. Zat-zat kimia ini secara sederhana dirujuk sebagai senyawa metabolit sekunder yang keberadaannya terbatas pada spesies tertentu. Senyawa – senyawa yang tergolong kedalam kelompok metabolit sekunder ini antara lain: alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, dan lainnya. Senyawa metabolit sekunder digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan, dan obat tradisional (Simbala, 2009).

2.2.2 Kandungan senyawa pada tanaman genjer

Tanaman genjer (*Limnocharis flava*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Kandungan yang terdapat pada tanaman genjer diantaranya adalah (Narwanti dan Hamida, 2018):

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolik sekuder yang terdapat pada semua tumbuhan berpembuluh. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang dijumpai sebagai flavonoid tunggal. Flavonoid dengan struktur kimia C6-C3-C6 termasuk dalam golongan senyawa fenolik.

Antosianin, flavonol, proantosianidin, flavon, glikoflavon, flavanon, biflavonil, isoflavon, khalkon dan auron merupakan golongan flavonoid. Beberapa senyawa flavonoid seperti *kaempferol*, *quercetin*, *vitexin*, *apigenin*, *isovitexin*, *myricetin* dan *luteolin* yang terdapat pada sayuran, sereal, buah sebagian besar memiliki sifat sebgai antioksidan.

2. Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang meiliki berat molekul besar dan terdiri dari dari gugus hidroksil dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk komplek kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul. Tanin umunya terdapat pada dalam organ daun, buah, kulit batang dan kayu. Didalam tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak, misalnya bila hewan

memaknnya maka reaksi penyamaan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein sulit diabsorbsi oleh cairan pencernaan hewan.

3. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa basa yang mengandung satu tau lebih ato nitrogen. Senyawa ini tidak berwarna, kebanyakan berbentuk kristal, hanya sedikit yang berupa cairan. Hampir semua alkaloid yang ditemukan dia alam mempunyai keaktifan bioligis tertentu, ada yang sangat beracun dan ada pula yang berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin, dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek sifiologis dan fisikologis. Alkalod dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang.

Umumnya alkaloid berupa padatan kristal, tidak berwarna, bersifat basa dan sedikit yang berupa airan pada suhu kamar, serta lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar dalam suasana basa.

4. Steroid

Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang dapat dari hasil reaksi penurunan dari terpena atau skualena. Steroid merupakan kelompok senyawa yang penting dengan struktur dasar sterana jenuh dengan 17 atom karbon dan 4 cincin. Senyawa yang termasuk turunan steroid misalnya kolesterol, ergosterol, progesteron, dan estrogen.pada umunya steroid sebagai hormon. Steroid mempunyai struktur dasar yang terdiri dari 17 atom karbon yang membentuk tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana.

5. Saponin

Saponin merupakan glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi pada lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada konsentrasi rendah. Bukti akan adanya saponin yaitu pembentukan busa sewaktu memekatkan ekstrak tumbuhan.

Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, berbau menyengat, sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, membentuk busa kaloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik.

2.2.3 Hasil ukur senyawa ekstrak tanaman genjer

Dalam mengidentifikasi suatu ekstrak dari bahan alam dapat menggunakan uji yang disebut skrining fitokimia. Skining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolik sekunder. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder (Narwanti dan Hamida, 2018). Skrining fitokimia pada penilitian ini untuk mengetahui senyawa metabolik sekunder didalam ekstrak tanaman genjer.

Hasil ukur senyawa yang ada pada ekstrak tanaman genjer sebagai berikut (Narwanti dan Hamida, 2018):

1. Alkaloid: positif mengandung senyawa alkaloid jika terbentuk endapan berwarna coklat, kuning, atau jngga.

- 2. Streroid dan Terpenoid: positif mengandung stroid jika terbentuk warna hijau dan positif terpenoid jka terbentuk endapan berwarna merah kecoklatan.
- Flavonoid: positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah atau kuning.
- 4. Tanin: jika terbentuk warna hitam kehijauan maka positif mengandung tanin.

2.2.4 Faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa

- 1. Faktor Intrinsik atau Internal
 - Gen

Gen merupakan unit pewaris sifat bagi organisme hidup. Gen berfungsi menyandi protein yang berfungsi sebagai kelangsungan hidup organisme. Mengontrol seluruh pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan, gen juga dapat menaikan atau menurunkan kandungan biaaktif suatu tumbuhan. Jenis atau variates tanaman dapat menyebabkan perbedaan sifat seperti bau, rasa, kandungan kimia, dan jumlah produksi yang dihasilkan (Perkasa and Petropoulous, 2020).

Hormon

Hormon tumbuhan adalah suatu kelompok subtansi organik yang terjadi secara alami padatumbuhan, yang pada kosentrasi rendah dapat berpengaruh pada roses fisiologi seperti pertumbuhan, diferensiasi dan perkembangan tumbuhan (Perkasa and Petropoulous, 2020).

2. Faktor Ekstrinsik atau Eksternal

- Iklim seperti suhu, curah hujan, dan intensitas cahaya
- Ph tanah

Ph tanah sangat berpengaruh pada perkembangan tumbuhan, tanah yang asam mengandung alkali yang rendah sedangkan tanah basa mengandung alkali tinggi. Tanah yang baik adalah tanah yang kaya akan humus, netral (tidak bersifat asam atau basa), partikel halus dan kasar yang seimbang, pengikat air yang baik (Perkasa and Petropoulous, 2020).

- Stress lingkungan (logam berat, alicitor)
- Komposisi media kultur

2.3 Teori Aktivitas Antioksidan Pada Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*) dengan Metode DPPH

2.3.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralisir radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardivaskuler, karsiogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki stuktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas (Parwata, 2016).

2.3.2 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu:

 Antoksidan endogenmerupakan sistem enzim pada tubuh manusia, contohnya: enzim superoksida dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan katalase (CAT) (Kumalaningsih, 2006).

- Antioksidan alami merupakan antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan berupa tokoferol, vitamin C, beta karoten, flavonoid dan senyawa fenolik yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar (Kumalaningsih, 2006).
- 3. Antioksidan sintesis merupakan antioksidan dari bahan-bahan kimia yang biasanya ditambahkan ke dalam bahan pangan untuk mencegah terjadinya reaksi autooksidasi. Antioksidan tersier bekerja memperbaiki sel sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Senyawa antioksidan yang secara luas digunakan adalah *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluen* (BHT), propil galat (Kumalaningsih, 2006).

2.3.3 Mekanisme Antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok (Anies, 2006;109; Winarsih 2007;79) yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga dengan antioksidan enzimatis. Suatu antioksidan dikatakan sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.Contoh antioksidan ini adalah enzim SOD yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas. Enzim SOD sebenarnya sudah ada pada tubuh kita tetapi membutuhkan bantuan zat-zat gizi

seperti mineral, mangan, seng, tembaga, selenium dan juga zat-zat yang berasal dari alam.

2. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier atau repair enzyme yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat radikal bebas. Antioksidan tersebut berupa Metionin sulfosida reduktase, Metionin selfosida reduktase, *DNA repair enzyme*, *protease*, *transferase*, dan *lipase* (Siagian, 2002).

3. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder yaitu antioksida yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas. Antioksidan tersebut adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan katalase (CAT).

Antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran dengan cara yaitu (Siagian, 2002):

- 1) Memusnakan radikal bebas secara enzimatik denganreaksi kimia langsung.
- 2) Mengurangi pembentukan radikal bebas.
- 3) Mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies reaktif (transferin, albumin).
- 4) Memperbaiki kerusakan sasaran.
- 5) Menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan baru.

Mekanisme kerja aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh konsentrasi dan struktur kimia terutama dari golongan flavonoid. Struktur ini meliputi struktur o-dihidroksi (katekol) pada cincin B yang sebagai target radikal dan donor elektron, gugus α-keto dengan konjunggasi ikatan rangkap C2-C3 yang

berperan untuk meningkatkan kapasitas scavenging raikal dan delokalisasi elektron cincin B dan adanya gugus 3-OH dan 5-OH dalam kombinasi dengan ikatan rangkap C2-C3 dan fungsi 4-karbonil yang menaikkan aktivitas scavenging radikal (Panagan, 2012)

2.3.4 Pengujian Aktivitas antioksidan dengan Metode DPPH

Metode yang digunakan dalam penetapan aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode in vitro yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel (Molyneux, 2004).

2.3.4.1 Definisi DPPH

Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) merupakan metode yang sering digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan dengan pengunaan radikal bebas DPPH yang stabil dan memiliki warna ungu yang ditujukkan oleh pita absorbsi dalam pelarut terntentu pada panjang geombang sekitar 517 nm. Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk pengukuran antioksidan (Molyneux, 2004).

Metode uji aktivitas antioksidan dipilih karena metode ini relatif sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH. Hal ini

ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Melyneux, 2004).

2.3.4.2 Mekanisme DPPH

Prinsip kerja metode DPPH adalah ketika larutan DPPH bereksi dengan senyawa antioksidan, senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada DPPH. Kemudian diukur dengan UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua manjadi kuning/kuning pucat) perubahan warna tersebut menunjukkan kemapuan sampel atau ekstrak dalam meredam aktivitas radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

Metode kerja dari DPPH sebagai berikut :

1. Preparasi sampel

Isolat atau ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 ± 20 nm.

2. Pengukuran absorbansi DPPH

Dilarutkan DPPH sesuai dengan pelarut sampel (etanol) kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 ± 20 nm.

3. Pengukuran absorbansi dan sampel

Larutan DPPH ditetesi larutan sampel kemudian ukur kembali absorbansinya pada panjang gelombang 517 ± 20 nm, ukur absorbansinya setiap 5 menit dan 60 menit. Kemudian hitung % peredaman sampel terhadap DPPH dengan formula sebagai berikut:

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

Keterangan:

A Blanko = nilai absorbansi tidak mengandung sampel (blanko)

A Sampel = nilai absorbansi larutan uji

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaa regresi linier (Molyneux, 2004).

2.3.5 Nilai IC50

Nilai IC50 merupakan parameter untuk menginterprestasikan hasil pengujian DPPH. Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Persamaan regresi linier digunakan untuk menetukan nilai IC50 (inhibitor cencentration 50%) dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC50. Nilai IC50 menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC50, maka semakin aktif sampel tersebut sebagai antioksidan (Wahdaningsih, Budilaksono and Fahrurroji, 2015).

tabel 2.2 Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Sumber: (Sadeer *et al.*, 2020))

Intensitas kekuatan aktivitas	Nilai IC50	Warna
Lemah	>150 μg/mL	Ungu gelap
Sedang	101-150 μg/mL	Ungu
Kuat	50-100 μg/mL	Kuning
Sangat kuat	<50 μg/mL	Ungu pucat

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Definisi

Ekstraksi berasal dari kata "extrahere", "to draw out", suatu proses penarikan atau pemisahan zat aktif tertentu pada suatu simplisia dengan pelarut tertentu. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Tujuan dari proses ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan komponen bioaktif dari bahan alam(Harbone, 1987). Hasil ekstraksi disebut dengan ekstrak, yaitu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani.

2.4.2 Jenis-jenis Ekstraksi

1. Secara panas

a) Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Refluks adalah teknik yang melibatkan kondensasi uap dan kembali kondenstan ini ke sistem dari mana ia berasal(Mukhtarini, 2014).

b) Sokletasi

Sokletasi adalah suatu metode pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam sampel padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan pelarut yang sama, sehingga semua komponen yang diinginkan dalam sampel dapat terisolasi secara sempurna (Istiqomah, 2010).

Ekstrasi dengan metode sokletasi yang mempunyai prinsip pemanasan dan perendaman sampel, sehingga akan mengakibatkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel yang disebabkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Metabolit yang berada di dalam sitoplasma akan terbawa kedalam pelarut organik. Pelarut kemudian menguap naik dan terkumpul kembali. Sirkulasi merupakan suatu siklus apabila larutan melewati batas lubang pipa yang terdapat pada samping soxhlet (Istiqomah, 2013).

c) Infudasi

Infudasi merupakan proses maserasi yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati, yang dibuat dengan cara mengekstak simplisia nabati pada suhu air sekitar 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk(Mukhtarini, 2014).

d) Digestasi

Digestasi dapat dilakukan sebagai maserasi kinetik (dengan pengadukan secara kontinyu) yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggih dari suhu ruangan. Pada umumnya dilakukan pada suhu 40-50% (Istiqomah, 2013).

2. Secara dingin

a) Perkolasi

Perkolasi adalah suatu metode ekstraksi dengan mengalirkan penyari melalui bahan yang telah dibatasi sehingga pelarut yang digunakan selalu baru. Pada metode ini simplisia ditempatka dalam suatu bejana silinder yang pada bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas

ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai keadaan jenuh(Istiqomah, 2013).

b) Maserasi

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi yang paling sederhana dengan merendam serbuk simplisia pada suhu kamar meggunakan pelarut yang sesuai dimana pelarut tersebut dapat melarutka analit yang ada dalam sampel dan tanpa pemanasan (Mukhtarini, 2014).

2.4.3 Pelarut

Dalam proses pembuatan ekstrak pelarut yang digunakan harus baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Pelarut tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya. Pemilihan pelarut harus mempertimbangan beberapa faktor utama, diantaranya selektivitas, mampu bekerja, ekonomis dan ramah lingkungan. Farmakope Indonesia menetapkan pelarut atau cairan penyari yang aman digunakan adalah etanol, air, etanol-air atau eter(Istiqomah, 2013).

Pelarut etanol banyak digunakan sebagai pelarut karena termasuk pelarut universal yang mampu menarik sebagaian besar senyawa kimia yang berkhasiat dalam herba. Keuntungan pelarut etanol adalah titik didih yang rendah maka lebih mudah menguap, maka dari itu jumlah etanol yang masih tertinggal pada ekstrak sangat sedikit. Selain itu ekstrak etanol sangat sulit ditumbuhi kapang dan kuman serta tidak beracun (Pramesti, 2013).

Etanol mampu melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, kurkumin, glikosida, flavonoid, damar, klorofil. Sehingga zat pengganggu yang terlarut

hanya sedikit. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel meningkatkan stabilitas zat yang larut dalam obat. Manfaat lain dari etanol adalah kemampuannya untuk mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal sehingga sejumlah kecil zat pengganggu yang masuk ke dalam cairan yang di ekstraksi (Istiqomah, 2013).

2.5 Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

2.5.1 Definisi

Penetapan aktivitas antioksidan metode DPPH pada penelitia ini menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatuobjek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350 nm) dan sinar tampak (350-800) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya UV atau VIS mengakibatka transisi elektronik, yaitu promosi elektronelektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi lebih rendah (Sastrohamidjojo, 2007).

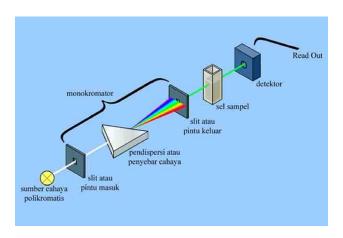
2.5.2 Jenis-jenis Spektrofotometer

Spektrofotometer memiliki 2 tipe yaitu spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer sinar tunggal biasanya dipakai untuk kawasan speetrum ultraungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer

sinar ganda dapat dipergunakan baik dalam kawasan ultraungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah(Suhartati, 2017)

1. Single beam

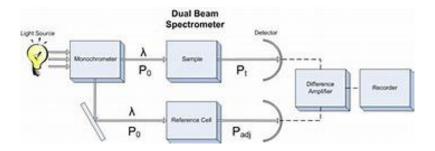
Single beem instrumen dapat digunakan untuk kuantitatif dengan megukur absorbansi pada panjag gelombag tunggal. Pengukuran sampel dan laruran blangko atau standar harus dilakukan secara bergantian dengan sel yang sama (Suhartati, 2017).



Gambar 2.3 Diagram Alat Spektrofotometri UV-Vis (single beam) Sumber : Suhartati, 2017

2. Double beam

Sprektrofotometer memiliki berkas ganda, sehingga dalam pengukuran absorbansi tidak perlu bergantian antara sampel dan laruta blangko, spektrofotometer singel beam memakai absorbansi (A) otomatis sebagai fungsi panjang gelombang (Suhartati, 2017).



Gambar 2.4 Skema spektrofotometri UV-Vis (double-beam) Sumber : Suhartati, 2017

2.5.3 Bagian Spektrofotometer

a. Sumber cahaya

Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahay oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) mempunya panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunya panjang gelombang 200-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan ebergi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Suhartati, 2017.

b. Monokromator

Monokromator adalah alat yang berfungsi untuk menguraikan cahaya polikromatis menjadi beberapa komponen panjang gelombang tertentu (monokromatis) yang berbeda (terdispersi) (Suhartati, 2017.

c. Detektor

Perenanan detektor penerma adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Detektor akan mengubah cahaya menadi sinyal listrik yang selanjutnya akan ditampilkan oleh penampil data dalam bentuk jarum atau angka digital. Mengukur transmitan larutan sampel, dimungkinkan untuk menentukan konsentransinya dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Spekrofotometer akan mengukur intensitas cahaya melewati sampel, dan membandingkan ke intensitas cahaya sebelum melewati sampel. Rasio disebut transmitan dan biasanya digunakan dalam presentase (Suhartati, 2017.

d. Mikroprosesor

Mikroprosesor dan output software dari kalibrator dapa disimpan dan konsentrasi sampel yang tidak diketahui secara otomatis dapat dihitung (Suhartati, 2017.

e. Piranti pembaca

Fungsinya adalah membaca sinyal listrik dari detector dimana data digambarkan dalam bentuk yang diinterprestasikan atau disajikan pasa display yang dapat dibaca oleh pemeriksa (Suhartati, 2017.

2.5.4 Prinsip Spektrofotometer

Prinsip kerja spektrofotometer adalah penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh bahan yang diperiksa. Tiap zat memiliki absrobansi pada panjang gelombang tertentu yang khas. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi digunakan untuk mengukur kadar yang diperiksa. Banyaknya cahaya

yang diabsorbsi oleh zat berbanding lurus dengan kadar zat. Memastikan ketepatan pengukuran, kadar yang hendak diukur dibandingkan terhadap kadar yang diketahui (standar). Setelah dimasukkan blangko (Zackiyah, 2016).

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis (Zackiyah, 2016) yaitu:

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini perlu diperhatikan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adlah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

2. Waktu operasional

Cara ini bisa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3. Pemilihan panjang gelombang

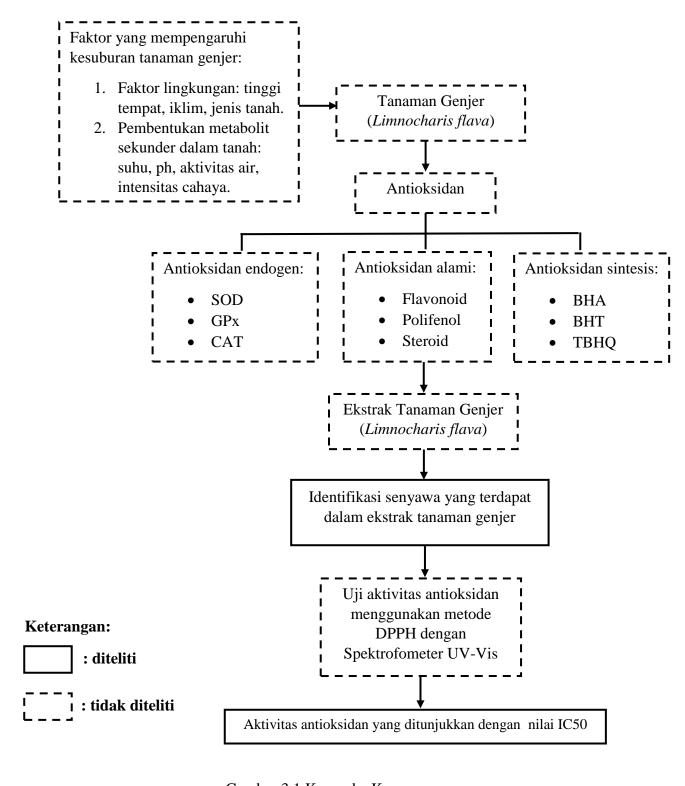
Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi terntentu.

2.5.5 Syarat menggunakan

Spektrofotometri dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah manjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain; harus melarutka sampel dengan sempurna, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjungsi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna, tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, kemurniannya harus tinggi (Zackiyah, 2016).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Hipotesis adalah dugaan atau jawaban sementara terkait masalah yang menjadi penelitian. Berdasarkan kerangka konsep di atas, maka yang menjadi hipotesis adalah:

- a) H0: Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*)dengan menggunakan metode DPPH.
- b) H1: Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol tanaman genjer (Limnocharis flava) dengan menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman genjer (*limnocharis flava*) merupakan penelitian eksperimental Laboratorium dengan menggunkan metode DPPH.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi merupakan keseluruhan total dari objek yang akan menjadi bahan penelitian sesuai dengan karateristik yang diinginkan dalam penelitian (Sani K., 2018).

Populasi pada penelitian ini yaitu ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis* flava).

4.2.2 Sampel

Sampel adalah bagian yang dapat mewakili populasi untuk dijadikan sebagai objek dari penelitian (Sani K., 2018).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) yang dibuat dalam berbagai macam kosentrasi (50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm).

4.3 Lokasi Penelitian

Tempat penelitian adalah keterangan tempat melakukan penelitian sesuai dengan tujuan dan desain penelitian yang digunakan (Sani K., 2018).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas dr.Soebandi, Laboratorium Biologi Universitas dr.Soebandi dan Laboratorium Biologi Akademi Farmasi.

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2022.

4.5 Variabel Penelitian

Variable penelitian adalah point-point yang akan menjadi karakteristik suatu penelitian (Sani K., 2018).

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang memberikan pengaruh atau faktor yang menyebabkan variable dependent menjadi berubah (Sani K., 2018).

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini:Kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*)dan nilai aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*).

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Variabel **Definisi** Cara Ukur Alat Ukur Skala Hasil Ukur Independen **Operasional** Kandungan Skala Senyawa yang Penambahan Larutan Reaksi warna senyawa terkandung dalam reagen pada pereaksi nominal yang terjadi dalam ekstrak tanaman masingatau reagen pada hasil uji ekstrak genjer yang di uji masing ekstrak tanman tanaman dengan metode kelompok uji genjer skrining dan diamati genjer fitokimia. terjadinya reaksi perubahan warna. Nilai Nilai aktivitas Pengukuran Skala Spektro Sangat kuat, **UV-Vis** aktivitas antioksidan yang aktivitas ordinal jika hasil antioksidan antioksidan didapatkan dari yang

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

ekstrak tanaman genjer	uji analisa menggunakan metode DPPH	dilakukan dengan cara mengambil konsentrasi ekstrak yang dibutuhkanke mudian ditambahka dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Lalu larutan inkubasi kemudian serapan	dapat <50 μg/mL • Kuat, jika yang di dapat 50-100 μg/mL • Sedang, jika yang di dapat 101-150 μg/mL • Lemah, jika yang di dapat >150 μg/mL
		inkubasi kemudian	
		panjanag gelombang maksimum.	

4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

a) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer, rotary evaporator, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi, corong bucher, alat-alat gelas, alumunium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, blender, kertas penyaring, cawan, desikator dan stopwatch.

b) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman genjer (*Limnocharis flava*)yang diperoleh dari pasar srono, kertas saring, etanol 70%, etanol PAdan senyawa DPPH.

4.7.2 Teknik Pengumpulan Data

4.7.2.1 Determinasi Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

Determinasi tanaman genjer (*Limbocharis flava*) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negri Jember dengan membawa semua bagian dari tumbuhan genjer. Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut benar-benar spesies dari (*Limnocharis flava*).

4.7.2.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Tanaman Genjer (*Limnocharis* flava)

Tanaman genjer pada penlitian kali ini diperoleh dari pasar srono. Tanaman genjer yang digunakan adalah bagian batang dan daun yang masih segar. Tahapan pertama adalah tanaman genjer disortasi untuk memisahkan bagian yang rusak, kemudian tanaman dicuci hingga bersih.

Tanaman genjer yang telah bersih kemudian dirajang hingga menjadi ukuran lebih kecil untuk selanjutnya dilakukan pengeringan, semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan sehingga akan mempercepat waktu pengeringan (Prasetyo dan Inoriah, 2013). Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur secara tidak langsung. Pengeringan di anggap telah selesai apabila bahan dapat dipecah atau retak apabila diremas menggunakan tangan (Ma'mun *et al.*, 2006). Tanaman genjer yang telah dikeringkan selanjutnya dibuat serbuk dengan cara diblender hingga menjadi serbuk simplisia.

4.7.2.3 Ekstraki Tanaman Genjer dengan Metode Sokletasi

Pembuatan ekstrak etanol tanaman genjer (*Limnocharis flava*) dilakukan berdasarkan metode ekstraksi sokletasi. Sokletasi dilakukan di Laboratorium

Akademi Farmasi Jember dengan merangkai alat soklet dan menimbang serbuk simplisia tanaman genjer (*Limnocharis flava*) sebanyak 100 gram, bungkus sampel dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soklet. Ukur etanol 70% sebanyak 700 mL dimasukkan kedalan labu sokletasi dan dilakukan sokletasi dengan suhu 70°C sampai tetesan siklus mendekati tidak berwarna (tersari sempurna). Hasil sokletasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*pada suhu 50°C dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut sehingga didapat ekstrak kental tanaman genjer (*Limnocharis flava*) (Saifudin dkk., 2011).

4.7.2.4 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanaman Genjer

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Widayanti, 2009).

1. Uji Tanin

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 10 mL air dan dididihkan selama 5-10 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtratnya ditambahkan FeCl₃ 10%. Warna biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin(Rosalina, 2018).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan etanol 4 mL kemudian dipanaskan. Filtratnya ditambahkan dengan H₂SO₄. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Rosalina, 2018).

3. Terpenoid

Sebanyak1 mg ekstrakdilarutkan dengan etanol dimasukkan kedalam cawan ditambahkan eter kemudian diuapkan hingga kering. Kemudian ditambahkan 10 tetes asetat anhidrat dan 3tetes H₂SO₄ pekat. Perubahan warna menjadi merah menunjukkan terdapat kandungan terpenoid (Rosalina, 2018).

4. Saponin

Sebanyak 1 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL air dan ditambahkan 1 tetes HCL kemudian dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa setinggi 1 cm maka menunjukkan adanya saponin (Rosalina, 2018).

5. Uji Alkaloid

1 mg ekstrak sampel dimasukkann kedalam tabung reaksi ditetei dengan 5 ml HCL 2N dipanaskan kemudian didinginkan kemudian dibagi menjadi 2. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi wagnerr, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi dragendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga(Rosalina, 2018).

4.7.2.5 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH 5 mg dilarutkan dengan 100 ml etanol PA dalam labu ukur. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya matahari(Handayani, 2014; Najhudin, 2017).

2. Penentuan Absorbansi DPPH

Penentuan absorbansi DPPH bertujuan untuk mengetahui seberapa besar yang dapat diabsorbsi oleh senyawa DPPH. Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis. Pengujian dilakukandengan cara memipet 4 mllarutan DPPH kemudian dimaukkan kedalam kuvet, dan diukur absorbansinya pada Panjang gelombang 516 nm. (Handayani, 2014).

3. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat dengan cara menimbang ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol PA sambil diaduk dan dihomogenkan kemudian dicukupkan volumenya higga 10 ml hingga didapatkan larutan induk dengan kosentrasi 1000 ppm. Pelarutan ekstrak dibantu dengan getaran ultrasonik agar ekstrak dapat terlarut dengan sempurna. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi kosentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol PA hingga diperoleh beberapa kosentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Handayani, 2014).

4. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan pembanding kuersetin dibuat dengan cara ditimbang sebayak 2 mg kuersetin dan dimasukkan kedalam labu ukur 20 ml ditambahkan etanol PA ad tanda batas dikocok hingga homogen, sehingga didapat kosentrasi larutan kuersetin 100 ppm. Kemudian dibuat larutan uji pembanding dengan kosentrasi 10ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 ml, 1

ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml dalam labu ukur 10 ml ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

5. Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui absorbansi saat senyawa uji bereaksi dengan senyawa DPPH. Penentuannya dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan kosentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang maksimum 516 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit. Waktu inkubasi pada sampel berbeda satu dengan lain, hal ini dikarenakan karakteristik pada sampel terutama aktivitas antioksidan dapat berbeda (Handayani, 2014).

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Tanaman Genjer (Limnocharis flava) dan Kuersetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0.5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) dan larutan kuersetin dengan konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm (Handayani,2014).

7. Perhitungan Nilai IC50

Parameter yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan adalahIC50. *Inhibitory Concentatrion* merupakan konsentrasi efektif (ppm) zat antioksidan yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50% (Molyneux, 2004:2011). Nilai IC50 dapat dihitung dengan mengetahui persen penghambatan dari pengujian yang dilakukan. Persen penghambatan dapat dihitung dengan rumus (Tjandra *et al.*, 2011).

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

Keterangan:

A Blanko = nilai absorbansi tidak mengandung sampel (blanko)

A Sampel = nilai absorbansi larutan uji

Nilai persen penghambatan yang diperoleh kemudian dibuat kurva terhadap konsentrasi larutan uji atau pembanding, selanjutnya dari kurva dibuat regresi linier sehingga diperoleh persamaan:

$$y = a+bx$$

Keterangan:

y : variabel terikat (persen penangkapan radikal bebas (50%))

x: variabel bebas (nilai IC50 (yang dicari))

b : konsentrasi regresi

b: koefisien regresi

Nilai IC50 sebagai parameter antioksidan dihitung dari persamaan regresi untuk mencari nilai x dengan memasukkan 50 pada nilai y, sehingga akan diketahui konsentrasi efektifnya (Kantri & Bendra, 2015).

4.8 SOP (Standar Operasional Prosedur)Uji Aktivitas Antioksidan

Tabel 4. 2 SOP (Standart Opersional Prosedur)

Kegiatan	Prosedur
Pengolahan	Pengambilan sampel dari pasar srono
sampel	Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan antara tanaman yang
	baik dan rusak.
	Pencucian menggunakan air mengalir hinggabenar-benar bersih
	Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-aginkan selama kurang labih 3 hari.
	Sortasi kering dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan
	benda asing yang mungkin ikut terbawa pada saat penjemuran.
	Pengecilan ukuran emnggunakan blender
Pembuatan	Penimbangan sampel tanaman genjer sebanyak 100 gram
ekstrak	Pengukuran etanol 70% sebanyak 700 ml
	Eksraksi menggunakan metode sokletasi
	Hasil dari sokletasi diuapkan dengan menggunakan rotary
	evaporator hingga mendapatkan ekstak kental
	Hitung persen rendemen
Pengujian	Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung
senyawa paada	dalam ekstrak genjer dengan metode skrining fitokimia, meliputi:
ekstrak tanaman	Uji tannin
genjer	Uji flavonoid
	Uji terpenoid
	Uji saponin
	Uji alkaloid
Pengujian	Pembuatan larutan DPPH
aktivitasa	Penentuan absorbansi DPPH
antioksidan	Pembuatan larutan uji ekstrak
dengan metode	Pembuatan larutan pembanding kuersetin
DPPH	Optimasi waktu inkubasi
	Pengukuran aktivitas antioksidan
	Perhitungan nilai IC50

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*)

1. Determinasi tanaman genjer

Determinasi dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu)
Politeknik Negri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman
genjer yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipastikan berasal dari
spesies Limnocharis flava dari yang tergolong dalam famili Limnocharis.

2. Hasil identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstak tanaman genjer

Identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer merupakan langkah awal untuk memeperkirakan senyawa apa saja yang berpontesi sebagai antioksidan. Metode untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer adalah skrining fitokimia. Hasil dari identifikasi senyawa dalam ekstrak tanaman genjer(*Limnocharis flava*) dapat dilihat pada (Tabel 5.1).

Tabel 5. 1 Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Tanaman Genjer

Senyawa	Pereaksi	Hasil Penelitian	Hasil
Tanin	FeCl3	Hijau kehitaman	Positif (+)
Flavonoid	HCL	Terbentuk warna kuning	Positif (+)
Terpenoid	Etil asetat + Asam	Terbentuk warna merah	Positif (+)
	asetat		
Saponin	Air panas + HCL	Terbentuknya busa	Positif (+)
Alkaloid	HCL + Wagner HCL + Dregendrof	Wagner terbentuk endapan kuning, dregondrof terbentuk endapan jingga	Positif (+)

5.2 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer. Diukur absorbansinya pada panjang Spektrofotmeter UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm setelah diinkubasi selama 30 menit. Nilai IC50 pada masing-masing kosentrasi sampel dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: y= bx + a dapat dihitung dengan rumus: IC50 = (50-a)/b. Suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang 50 μg/mL, kuat jika yang di dapat 50-100 μg/mL,sedang jika yang di dapat 101-150 μg/mL, lemah, jika yang di dapat >150 μg/mL. Semakin kecil nilai IC50 maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Agustina, 2020). Aktivitas atioksidan juga dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada DPPH yaitu dari ungu berubah menjadi kuning jika terdapat aktivitas antioksidan (Zuraida et al., 2017). Hasil ananlisis data nilai IC50 ekstrak tanaman genjer dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5. 2 Hasil Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer

Ekstrak Tanaman Genjer				
Replikasi	IC50	Rata-Rata IC50±SD	RSD	Kategori
1	103,1			
2	93,9	$94,373 \pm 8,500$	9,007	Kuat
3	86,12			

Dari data yang diperoleh pada Tabel 5.2 dapat disimpulkan bahwa ekstrak tanaman genjer memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan ratarata nilai IC50 sebesar 94,373 µg/mL.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Senyawa Yang Terkandung Dalam Ekstrak Tanaman Genjer (Limnocharis flava)

Pada hasil penelitian ini dinyatakan dalam ekstrak tanamn genjer (Limnocharis flava) terdapat senyawa tanin, flavonoid, terpenoid, saponin, dan alkaloid dengan hasil positif dimana senyawa tersebut termasuk dalam senyawa antioksidan. Penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil beberapa sampel ekstrak tanaman genjer, kemudian ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Sesuai hasil yang didapat positif mengandung senyawa tanin karena larutan ekstrak tanaman genjer yang di tambahkan dengan reagen FeCl membentuk warna hijau kehitaman. Positif mengandung senyawa flavonoid karena pada hasil penelitian larutan ekstrak tanaman genjer yang ditambahkan dengan HCl membentuk warna kuning. Positif mengandung senyawa terpenoid karena pada larutan ekstrak tanaman genjer yang ditambahkan dengan etil asetat dan asam asetat membentuk warna merah. Positif mengandung senyawa saponin karena pada larutan ekstrak tanaman genjer yang ditambahkan air panas dan HCl kemudian dikocok selama satu menit terbentuknya busa. Pada pengujian alkaloid dilakukan dengan penambahan 2 jenis reagen, larutan ekstrak tanaman genjer yang ditambahkan dengan reagen HC dan Wagner terbentuk endapan kuning, sedangkan pada penambahan reagen HCl dan Dregondrof terbentuk endapan jingga yang dapat bahwa kedua pengujian tersebut positif mengandung alkaloid.

Identifikasi senyawa dalam ekstrak tanaman genjer yang dilakukan oleh Nurjannah *et al* (2014) menggunakakn pelarut etanol 95% dapat menarik senyawa berupa steroid, saponin, fenol dan gula pereduksi yang dinyatakan positif dan dalam ujinya juga mengidentifikasi beberapa senyawa yang ternyata dinyatakan negatif diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, biuret, ninhidrin yang dinyatakan negatif.

Menurut peneliti perbedaan hasil dari identifikasi senyawa dalam ekstrak tanaman genjer yang dilakukan oleh Nurjannah et al (2014) dengan penelitian kali ini terletak pada tanaman genjer yang digunakan. Pada penelitian tersebut menggunakan tanaman genjer yang telah mengalami pengukusan sedangkan pada penelitian ini menggunakan tanaman genjer segar. Beberapa senyawa dalam tanaman genjer (alkaloid dan flavonoid) tidak tahan dengan pemanasan, sehingga menyebabkan senyawa tersebut hilang karena proses pemanasan. Tempat tumbuh genjer juga dapat mempengaruhi senyawa yang terkandung didalamnya seperti terpenuhinya unsur hara dan intensitas cahaya. Tanaman seperti halnya makluk hidup lainya memerlukan nutrisi yang cukup memadai dan seimbang agar dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Unsur hara merupakan unsur penting dalam pertumbuhan suatu tanaman, kekurangan unsur hara dapat menyebabkan tanaman menjadi.. Sama halnya dengan unsur hara, cahaya matahari merupakan sumber utama bagi kehidupan suatu tanaman. Kekurangan cahaya matahari akan mengganggu proses fotosntesis dan pertumbuhan. Ketika tanaman genjer kekurangan sinar matahari, biasana mereka akan tumbuh lebih cepat dengan meregangkan batangnya unuk mencari cahaya. Hal ini disebut dengan proses

etiolosi yang merupakan mekanisme pertahanan hidup, kondisi ini buruk bagi tanaman karena mereka tumbuh dalam kedaan lemah, batang yang tidak kokoh, daun kecil dan pucat. Keadaan tersebut jelas akan mempengaruhi kandungan senyawa yang ada didalamnya, karena tanaman genjer yang dihasilkan berkualits buruk. Metode ekstraksi dan pelarut juga mempengaruhi kandungan senyawa dalam tanaman genjer. Pemilihan pelarut perlu diperhatikan agar senyawa yang ada dalam tanaman genjer dapat tertarik secara sempurna, sehingga kandungan tanaman genjer dapat dimanfaatkan secara optimal.

6.2 Identifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Genjer(Limnocharis flava)

Pada hasil penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak tanaman genjer memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC50 94,373 μg/mL karena nilai yang dihasilkan dalam rentan niai 50-100 μg/mL. Hal ini bisa dikatakan bahwa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer tergolong baik dalam menghambat radikal bebas.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nurjannah *et al* (2014) meiliki aktivitas antioksidan yang tergolong rendah dengan meggunakan sampel ekstrak tanaman genjer segar, mengalami pengukusan 3 menit, dan mengalami pengukusan selma 5 menit. Nilai aktivitas antioksidan yang didapat pada penelitian Nurjannah et al (2014) adalah ekstrak tanaman genjer segar dengan nilai IC50 131 μg/mL, ekstrak genjer yang mengalami pengukusan 3 menit sebesar 135 μg/mL, dan mengalami pengukusan 5 menit sebesar 340 μg/mL. Nurjannah *et al* (2014) mengatakan bahwa semakin lama waktu pengukusan

semakin besar nilai IC50 sehingga semakin menurun keefektifan sampel sebagai sumber antioksidan.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian ini. Dalam beberapa jurnal yang telah penulis kaji, dijelaskan bahwa terdapat beberapa faktor yang dapat memmpengaruhi nilai IC50 pada setip penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer. Aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman genjer ditentukan oleh kandungan senyawa yang ada didalamnya seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Dalam identifikasi pada penelitian tersebut senyawa beberapa senyawa dinyatakan negatif diantaranya flavonoid dan alkaloid, sedangkan pada penelitian ini senyawa yang diujikan semua dinyatakan positif. Hal ini yang menentukan perbedaan nilai IC50 yang didapat, karena senyawa tersebut merupakan komponen antioksidan terpenting dalam tanaman genjer. Pemilihan metode ekstraksi juga berpengaruh dalam nilai aktivitas antioksidan, pada penelitian tersebut menggunakan ekstraksi maserasi sedangkan pad penelitian ini menggunaka ekstraksi sokletasi, dimana metode sokletasi memiliki keuntungan menyari secara sempurna dibandingkan dengan metode maserasi. Pelarut juga dapat menetukan hasil nilai aktivitas antioksidan, (Zhang et al., 2009) menyatakan bahwa pelarut atanol 70% merupakan pelarut yang cocok untuk melarutkan senyawa yang ada pada tanaman genjer karena menghasilkan flavonoid optimum dibandingkan dengan atanol 95% yang digunakan oleh penelitian Nurjannah et al (2014) karena dikatakan kurang optimal dalam penyerapan senyawa pada suatau simplisia.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- Identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer
 Kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak tanaman genjer
 (Limnocharis flava) yaitu tanin, flavonoid, terpenod, saponin dan alkloid yang dinyatakan positif.
- Identifikasi nilai aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer
 Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) tergolong dalam antioksidan kuat dengan nilai IC50 yaitu94,373µg/mL

7.2 Saran

- Saran bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak tanaman genjer (Limnocharis flava).
- 2. Saran bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer (*Limnocharis flava*) menggunakan metode lain selain DPPH.
- 3. Dengan dilakukannya penelitian ini tanaman genjer telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan, sehingga dapat dijadikan sumber antioksidan seharihari bagi masyarakat tetapi perlu diperhatikan untuk pengolahan tidak boleh melebihi batas maksimum pemanasan yaitu 3 menit agar kandungan antioksidan tidak berkurang.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F. and Hidayati, I. (2020) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan', *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(1), pp. 39–50. doi: 10.15408/kauniyah.v13i1.12114.
- Casado-Diaz, A. *et al.* (2022) 'Evaluation of Antioxidant and Wound-Healing Properties of EHO-85, a Novel Multifunctional Amorphous Hydrogel Containing Olea europaea Leaf Extract', *Pharmaceutics*, 14(2). doi: 10.3390/pharmaceutics14020349.
- Dwi, A. and Syam, L. (2017) 'Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia Calabura)', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 1–8.
- erawati (2012) 'uji aktivtas antioksidan ekstrak dun pierre dengan metode DPPH dan identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi paling katif'.
- Handayani, V., Ahmad, A. R. and Sudir, M. (2014) 'Antioxidant Activity Test of Patikala Flower and Leaf Methanol Extract (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) Using DPPH Method', *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), pp. 86–93.
- Ibtisam (2012) 'Optimasi Pembuatan Ekstrak Daub Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Menggunakan Metode Perkolasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik Dan Flavonoid', *Jurnal Kesehatan*, 4(1).
- Istiqomah (2013) Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soklektasi Terhadap Kadar Piprin Buah Cabe Jawa, UIN Syarif Hidayatullah.
- Jack, L. and Rohman, A. (2005) 'Daya antioksidan ekstrak etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) secara in vitro Antioxidant potency of ethanolic extract of Kemuning', *Majalah farmasi Indonesia*, 16(3), pp. 136–140.
- Juliani, F. (2018) 'Respon morfologi tanaman genjer (Limnocharis flava) terhadap lamanya rendaman parsial pada fase vegetatif'.
- Lobo, V. *et al.* (2010) 'Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health', *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), pp. 118–126. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Maryam, S., Baits, M. and Nadia, A. (2016) 'Pengukuran Aktivitas Antiokisdan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), pp. 115–118. doi: 10.33096/jffi.v2i2.181.
- Molyneux, P. (2004) 'The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity', *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), pp. 211–219. doi: 10.1287/isre.6.2.144.
- Mukhtarini (2014) 'Mukhtarini, "Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif," J. Kesehat., vol. VII, no. 2, p. 361, 2014.', *J. Kesehat.*, VII(2), p. 361.
- Narwanti, I. and Hamida, I. A. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana, Kloroform dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Limnocharis flava

- dengan Metode DPPH', Jurnal Insan Farmasi Indonesia, 1(2), pp. 251–259.
- Parwata, M. O. A. (2016) 'Antioksidan', *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, (April), pp. 1–54.
- Perkasa, A. Y. and Petropoulos, S. (2020) "Genjer" Yellow Velvetleaf used as indigenous vegetable in Indonesia", *Anatolian Journal of Botany*, 4(1), pp. 76–79. doi: 10.30616/ajb.710777.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
- Pramesti, R. (2013) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Caulerpa serrulata Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil)', *Buletin Oseanografi Marina*, 2(2), pp. 7–15.
- Prasadhana, E. R., Arumsari, A. and Kurniaty, N. (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Genjer (Limnocharis Flava (L.) Buchenau) Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Bacillus Subtilis'.
- Rahmawati, P. Z. and Sa'diyah, D. C. (2020) 'Penetapan Kadar Vitamin B1 Pada Genjer (Limnocharis Flava) Dengan Pengukusan Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis', *the Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 3(2), p. 1. doi: 10.30651/jmlt.v3i2.4782.
- Rohmatussolihat, P. and Si, S. (2009) 'Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia', 4(1), pp. 5–9.
- Sadeer, N. B. *et al.* (2020) 'The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations', *Antioxidants*, 9(8), pp. 1–39. doi: 10.3390/antiox9080709.
- Saifuddin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H., Y, 2011, Standarisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Siagian, A. (2002). 'Berbagai BTM yang digunakan untuk maksud tersebut di antaranya pemanis buatan, pengganti lemak', pp. 1–9.
- Silalahi, J. (2006) 'makanan fungsional', 40, pp. 47–48.
- Wahdaningsih, S., Budilaksono, W. and Fahrurroji, A. (2015) 'Uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana kulit buah naga merah menggunakan metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil', *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 1(2), p. 115. doi: 10.26418/jurkeswa.v1i2.42997.
- Widayanti, S. (2009) 'Kapasitas dan Kadar Antioksidan Ekstrak Tepung Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Pada Berbagai Pelarut Dengan Metode Maserasi', *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, pp. 61–68.
- Wulandari, E. T. *et al.* (2013) 'In vitro antioxidant and cytotoxicity activity of extract and fraction Pyrrosia piloselloides (L) M.G price', *International Journal of PharmTech Research*, 5(1), pp. 119–125.
- Zackiyah (2016) 'Spektrometri Ultra Violet/Sinar Tampak (UV-Vis)', *Kimia Analitik Instrumen*, pp. 1–46.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi

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 - 68101Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531

E-mail: Polije@polije.ac.id Web Site: http://www.Polije.ac.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 147/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1574/FIKES.UDS/U/VI/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama

: Pryastika Socajiwa

NIM

: 18040080

Jur/Fak/PT

: Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: Kingdom/Regnum: Plantae: Devisio: Spermatophyta: Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida: Ordo: Alismatales; Famili: Butomaceae/ Limnocharitaceae; Genus: Limnocharis; Spesies: Limnocharis flava, Buch.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Agustus 2022

Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

Tr. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM

NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Tanaman Genjer

1. Pembuatan simplisia tanaman genjer(*Limnocharis flava*)

Tanaman genjer yang dugunakan dalam penelitian ini adalah batang sampai daun yang masih segar yang dibeli dari pasar srono karena pasar srono termasuk pasar besar yang sering dikunjungi oleh konsumen. Pembelian dilakukan haya kepada satu pedagang untuk menyamakan perlakuan.

Tanaman genjer sebanyak 6 kemudian disortasi basah yaitu dipisahkan dari kotoran-kotoran yang melekat dan dipisahkan antara tanaman yang baik dengan tanaman yang tidak layak digunakan yaitu layu,busuk, atau menguning. Setelah dilakukan sortasi basah kemudian tanaman genjer dicuci dengan menggunakan air bersih yang mengalir. Pencucian dilakukan beberapa kali hingga tanaman genjer bersih, pada saat pencucian tanaman genjer dilakukan dengan perlahan-lahan agar tanaman genjer tidak rusak.

Tanaman genjer yang telah bersih kemudian memasuki tahap perajangan. Perajangan tanaman genjer bertujuan untuk empermudah proses pengeringan simplisia. Tanaman genjer dirajang dengan panjang 1cm agar mempercepat penguapan airnya, sehingga waktu pengeringan semakin cepat. Pengeringan pada penilitian ini dilakukan secara tidak langsung dengan cara di anginanginkan. Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam wadah yang lebih lama. Tanaman genjer yang sedang dijemur tersebut dibolak-balik secara berkala, hal ini berjutuan agar pemanasan merata. Pengeringan dihentikan apabila berbunyi gemerisik ketika diremas atau

simplisia mudah dipatahkan. Mudah dipatahkan menandakan bahwa simplisia tersebut kandunga airnya kurang dari 10%.

Setelah proses pengeringan selesai, maka akan dilanjutkan dengann sortasi kering. Tujuan sortasi kering adalah untuk memisahkan benda-benda asung seperti kerikir atau batu-batu kecil yng mungkin ikut masuk kedalam simplisia ketika proses pengeringan. Setelah melalui proses sortasi kering, tanaman genjer kemudian diblender dengan tujuan untuk meperkecil ukuran, sehingga pada saat enyarian dapat dilakukan secara optimal. Serbuk simplisia yang dihasilkan yaitu seberat 130 gram.

2. Pembuatan ekstraksi tanamn genjer dengan metode sokletasi(*Limnocharis* flava)

Sebanyak 100 gram serbuk simplisia tanaman genjer (*Limnocharis flava*) dibungkus dengan menggunkan kertas saring disesuaikan dengan besarnya alat soklet kemudian dimasukkan kedalam alat sokletasi. Pelarut etanol 70% sebanyak 700 ml dimasukkan kedalam labu soklet dan dilakukan soklet dengan suhu 70°C sampai tetesan siklus mendekati tidak berwarna. Ekstraksi sokletasi untuk mendapatkan tetesan siklus yang tidak berwarna lagi (tersari sempurna) yaitu 2 hari. Hasil sokletasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 65°C dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut sehingga didapat ekstrak kental tanaman genjer (*Limnocharis flava*). Ekstrak kental tanaman genjer yang didapat sebanyak 24,09 gram dengan persen rendemen sebesar 24,09%. Hasil rendemen dapat dikatakan baik karena nilainya >10%. Besar kecilnya rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Efektifitas

proses ekstraksi dipengaruhi jenis pelarut, ukuran partikel simplisia, metode dan lamanya ekstraksi.

Perhitungan % rendemen:

Replikasi 1:

Rendemen Ekstrak =
$$\frac{bobot\ ekstrak}{bobot\ simplisia}$$
 x 100%

$$= \frac{24,09 \ gram}{100 \ gram} \times 100\% = 24,09\%$$

Replikasi 2:

Rendemen Ekstrak =
$$\frac{bobot \ ekstrak}{bobot \ simplisia} \times 100\%$$

= $\frac{23,22 \ gram}{100 \ gram} \times 100\% = 23,22\%$

Replikasi 3:

Rendemen Ekstrak =
$$\frac{bobot \ ekstrak}{bobot \ simplisia} \times 100\%$$

= $\frac{20,98 \ gram}{100 \ gram} \times 100\% = 20,98\%$

Bobot serbuk simplisia yang di ekstrak	Bobot ekstrak hasil sokletasi	Nilai rendemen
100 g	24,09 g	24,09 %

Lampiran 3. Langkah-langkah dalam mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ektrak tanaman genjer

1. Uji Tanin

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 10 mL air dan di didihkan selama 5-10 menit. Selanjutnya campuran disaring dan filtratnya ditambahkan FeCl₃ 10%. Warna biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin. (Terbentuk warna hijau kehitaman menandakan adanya senyawa tanin) (Rosalina, 2018).



2. Uji flavonoid

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan etanol 4 mL kemudian dipanaskan. Filtratnya ditambahkan dengan H₂SO₄. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. (Terbentuk warna kuning) (Rosalina, 2018).



3. Uji terpenoid

Sebanyak 1mg ekstrakdilarutkan dengan etanol dimasukkan kedalam cawan ditambahkan eter kemudian diuapkan hingga kering. Kemudian ditambahkan 10 tetes asetat anhidrat dan 3tetesH₂SO₄ pekat. Perubahan warna menjadi merah menunjukkan terdapat kandungan terpenoid. (Terbentuk warna merah) (Rosalina, 2018).



4. Uji saponin

Sebanyak 1 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL air dan ditambahkan 1 tetes HCL kemudian dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa setinggi 1 cm maka menunjukkan adanya saponin. (Terbentuk busa) (Rosalina, 2018).



5. Uji alkaloid

1 mg ekstrak sampel dimasukkann kedalam tabung reaksi ditetei dengan 5 ml HCL 2N dipanaskan kemudian didinginkan kemudian dibagi menjadi 2. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi wagnerr, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi dragendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Rosalina, 2018).



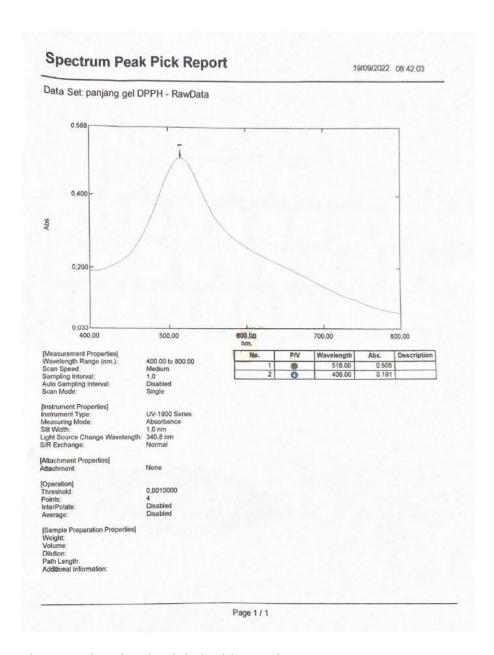


Lampiran 4. Langkah-langkah dalam identifikasi ekstrak tanaman genjer

1. Penentuan absorbansi senyawa DPPH

Pada penentuan absorbansi senyawa DPPH menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Blanko yang digunakan yaitu etanol p.a 4 ml dan larutan DPPH 4 ml yang diperoleh absorbansi yaitu 0,505 pada panjang gelombang 516 nm.

5 mg DPPH dilarutkan pada 100 ml etanol p.a =
$$\frac{5 mg \times 1000 ml}{100 ml}$$



2. Pengukuran optimasi waktu inkubasi kuersetin

Proses inkubasi dilakukan dengan memipet larutan kuersetin sebanyak 0,5 ml pada konsentrasi tertentu kemudian ditambahkan dengan 3,5 ml larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 516nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 5 menit. Hasil dari

uji optamasi waktu inkubasi kuersetindiperoleh waktu terbaik pada menit 15 dengan melihat absorbansi yang mulai stabil dan tidak berubah signifikan.

Larutan induk = 2 mg kuersetin dilarutkan dalam etanol p.a 20 ml

$$= \frac{2 mg \ x \ 1000 \ ml}{20 \ ml} = 100 \ ppm$$

Nilai Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin

Optimasi Waktu Inkubasi Kuersetin					
Sampel Menit		Absorbansi			Absorbansi
		Repllikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Absorbansi
DPPH			0,572		
	0	0,181	0,165	0,156	0,167
	5	0,104	0,115	0,106	0,108
	10	0,105	0,116	0,107	0,109
	15	0,105	0,116	0,107	0,109
	20	0,104	0,115	0,107	0,109
	25	0,103	0,115	0,106	0,108
Kuersetin	30	0,102	0,114	0,105	0,107
	35	0,102	0,113	0,105	0,107
	40	0,096	0,108	0,099	0,101
	45	0,094	0,107	0,098	0,100
	50	0,094	0,105	0,097	0,099
	55	0,092	0,104	0,097	0,098
	60	0,091	0,103	0,096	0,097

3. Pengukuran optimasi waktu inkubasi ekstrak tanaman genjer

Proses inkubasi dilakukan dengan memipet larutan ekstrak etanol tanaman genjer (*Limnocharis flava*) sebanyak 0,5 ml pada konsentrasi tertentu kemudian ditambahkan dengan 3,5 ml larutan DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 516 nm yang dimulai dari menit 0 hingga menit 60 dengan selang waktu 5 menit. Hasil dari uji optamasi waktu inkubasi kuersetindiperoleh waktu terbaik pada menit 30 dengan melihat absorbansi yang mulai stabil dan tidk berubah signifikan.

Larutan induk = 10 mg kuersetin dilarutkan dalam etanol p.a 10 ml $= \frac{10 mg \times 1000 ml}{10 ml} = 1000 \text{ ppm}$

Hasil Absorbansi Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak

Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Tanaman Genjer					
Samuel Manit		Absorbansi			Absorbansi
Sampel	Menit	Repllikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Absorbansi
DPPH			0,576		
	0	0,29	0,305	0,285	0,293
	5	0,322	0,281	0,283	0,295
	10	0,307	0,273	0,277	0,286
	15	0,308	0,267	0,267	0,281
	20	0,305	0,264	0,263	0,277
	25	0,305	0,26	0,259	0,275
Ekstrak	30	0,301	0,258	0,257	0,272
	35	0,297	0,256	0,255	0,269
	40	0,296	0,253	0,253	0,267
	45	0,293	0,251	0,251	0,265
	50	0,292	0,248	0,249	0,263
	55	0,293	0,247	0,247	0,262
	60	0,290	0,245	0,245	0,260

4. Pengukuran aktivitas antioksidan kuersetin

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan kuersetin (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH 3,5 ml. Campuran seklanjutnya di inkubasi selama 15 menit sesuai dengan hasil optimasi waktu dan diukur pada panjang gelombang 516 nm. Hasil pengujian kemudian dihitung untuk mendapatkan % inhibisi dari berbagai konsentrasi dengan memasukkan hasil pada rumus. Kemudian dibuat kurva untuk mendapatkan rumus regresi linier yang selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC50.

Dari larutan induk 100 ppm yang telah dibuat kemudian diencerkan hingga memperoleh berbagai konsentrasi

5 ppm
$$= \frac{5 mg \times 20 ml}{100 ppm} = 1 ml$$
10 ppm
$$= \frac{10 mg \times 20 ml}{100 ppm} = 2 ml$$
15 ppm
$$= \frac{15 mg \times 20 ml}{100 ppm} = 3 ml$$
20 pm
$$= \frac{20 mg \times 20 ml}{100 ppm} = 4 ml$$
25 ppm
$$= \frac{25 mg \times 20 ml}{100 ppm} = 5 ml$$

Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi
Blanko		0,466	
	5 ppm	0,241	48,2833
	10 ppm	0,233	50
R1	15 ppm	0,219	53,0043
	20 ppm	0,198	57,5107
	25 ppm	0,179	62,2318
	5 ppm	0,24	48,4979
	10 ppm	0,22	52,7897
R2	15 ppm	0,218	53,2189
	20 ppm	0,185	60,3004
	25 ppm	0,175	62,4464
	5 ppm	0,235	49,5708
R3	10 ppm	0,22	52,7897
	15 ppm	0,188	59,6567
	20 ppm	0,173	62,8755
	25 ppm	0,167	64,1631

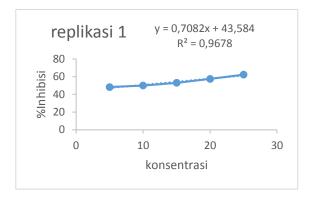
Perhitungan Nilai IC50 Kuersetin

Nilai IC50 pada masing-masing kosentrasi sampel dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan %

inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: y=bx+a akan didapatkan hasil nilai IC50.

Replikasi 1

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5 ppm	48,2833
10 ppm	50
15 ppm	53,0043
20 ppm	57,5107
25 ppm	62,2318



pers. Garis
$$y = bx + a$$

$$=0,7082x+43,584$$

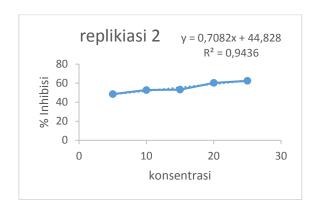
IC50 = 50% Peredaman

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 0.7082x + 43.584$

$$x = 9,06$$

Replikasi 2

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5 ppm	48,4979
10 ppm	52,7897
15 ppm	53,2189
20 ppm	60,3004
25 ppm	62,4464



pers. Garis
$$y = bx + a$$

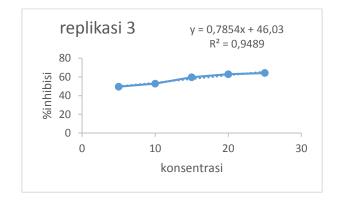
$$=0,7082x+44,828$$

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 0.7082x + 44.828$

$$x = 7,3$$

Replilkasi 3

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
5 ppm	49,5708
10 ppm	52,7897
15 ppm	59,6567
20 ppm	62,8755
25 ppm	64,1631



a=
$$46,03$$
 b= $0,7854$ r = $0,9489$ pers. Garis $y = bx + a$ = $0,7854x + 46,03$

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 0.7854x + 46.03$

$$x = 5.05$$

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC50	Kategori
9,06	7,3	5,05	7,137	Sangat Kuat

5. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak tanaman genjer dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan uji ekstrak dengan konsentrsi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH 3,5 ml. Campuran selanjutnya diinkubasi selama 30 menitsesuai dengan hasil optimasi waktu dan diukur pada panjang gelombang 516 nm. Hasil pengujian kemudian dihitung untuk mendapatkan % inhibisi dari berbagai konsentrasi dengan memasukkan hasil pada rumus. Kemudian dibuat kurva untuk mendapatkan rumus regresi linier yang selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC50.

Dari larutan induk 100 ppm yang telah dibuat kemudian diencerkan hingga memperoleh berbagai konsentrasi

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

$$100 \, \text{ppm} = \frac{100 \, mg \, x \, 10 \, ml}{1000 \, ppm} = 1 \, \text{ml}$$

200m =
$$\frac{150 \, mg \, x \, 10 \, ml}{1000 \, ppm}$$
 = 1,5 ml
200 ppm = $\frac{200 \, mg \, x \, 10 \, ml}{1000 \, ppm}$ = 2 ml
250 ppm = $\frac{250 \, mg \, x \, 0 \, ml}{1000 \, ppm}$ = 2,5 ml

Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Tanaman Genjer

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi
	Blanko		
	50 ppm	0,281	45,962
	100 ppm	0,273	47,5
R1	150 ppm	0,234	55
	200 ppm	0,205	60,577
	250 ppm	0,185	64,423
	50 ppm	0,277	46,731
	100 ppm	0,267	48,\9
R2	150 ppm	0,23	55,769
	200 ppm	0,198	61,923
	250 ppm	0,176	66,514
	50 ppm	0,273	47,5
	100 ppm	0,263	49,423
R3	150 ppm	0,225	56,731
	200 ppm	0,193	62,885
	250 ppm	0,171	67,115

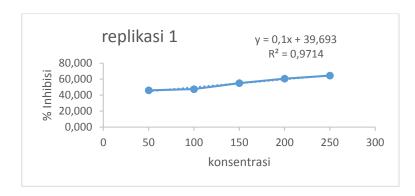
Perhitungan Nilai IC50 Ekstrak Tanaman Genjer

Nilai IC50 pada masing-masing kosentrasi sampel dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: y= bx + a akan didapatkan hasil nilai IC50.

Replikasi 1

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50 ppm	45,962
100 ppm	47,500

150 ppm	55,000
200 ppm	60,577
250 ppm	64,423



pers. Garis
$$y = bx + a$$

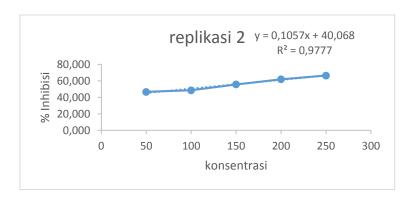
$$=39,692x+0,1$$

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 39,692 + 0,1$

$$x = 103,1$$

Replikasi 2

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50 ppm	46,731
100 ppm	48,654
150 ppm	55,769
200 ppm	61,923
250 ppm	66,514



pers. Garis
$$y = bx + a$$

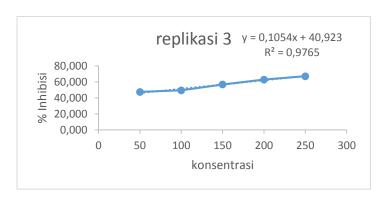
$$= 0.1057x + 40.068$$

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 0.1057x + 40.068$

$$x = 93,9$$

Replikasi 3

konsentrasi (x)	% Inhibisi (y)
50 ppm	47,500
100 ppm	49,423
150 ppm	56,731
200 ppm	62,885
250 ppm	67,115



$$a = 40,932$$
 $b = 0,1054r = 0,9765$

pers. Garis
$$y = bx + a$$

$$= 0.1054x + 40.932$$

IC50 = 50% Peredaman

Jika
$$y = 50$$
 maka, $50 = 0.1054x + 40.932$

$$x = 86,12$$

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata IC50	Kategori
103,1	93,9	86,12	94,373	Kuat