



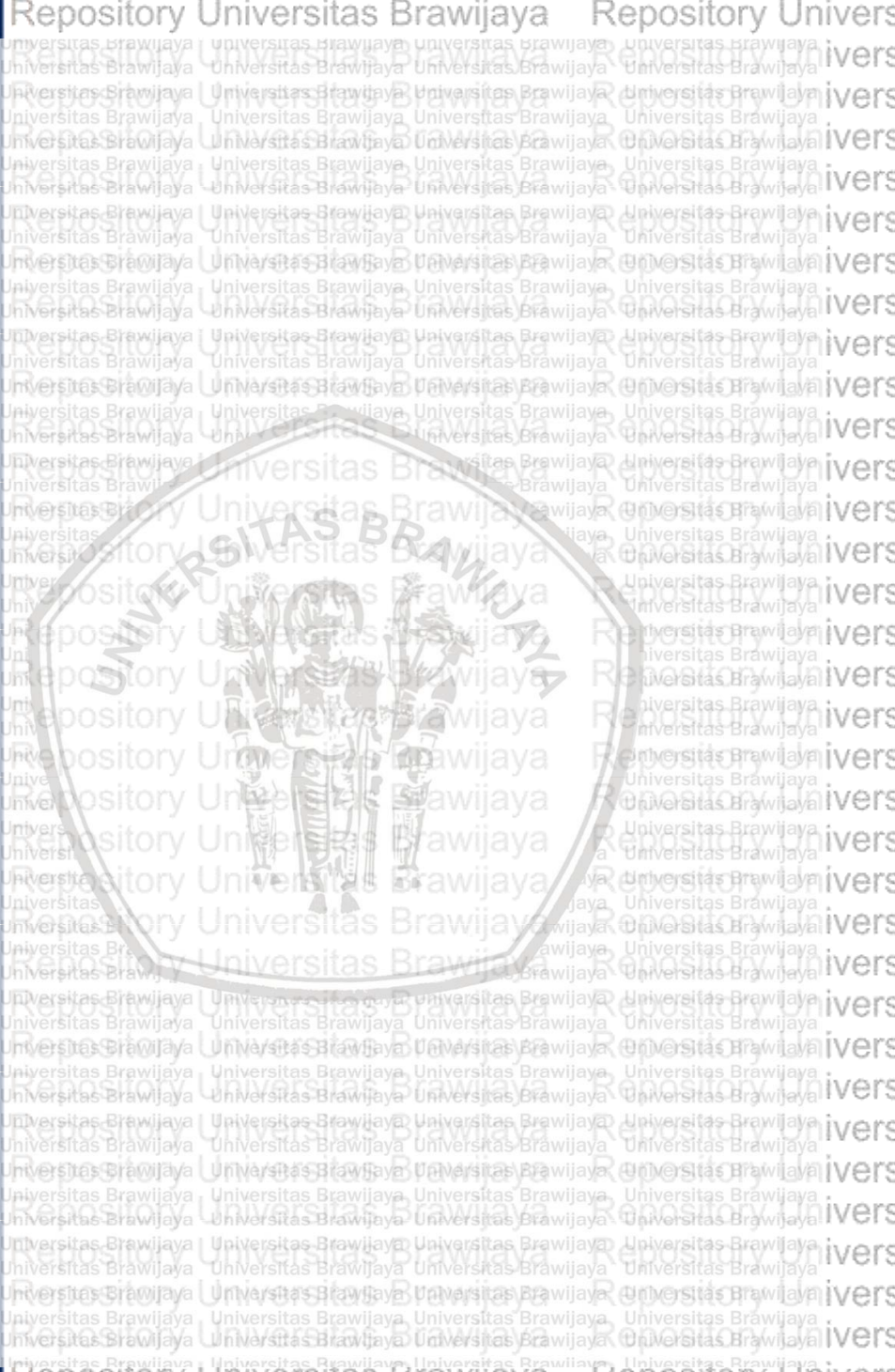
**Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidatif Ekstrak
Metanol Daun *Catharanthus roseus*, *Vitex trifolia* dan
Campurannya**

SKRIPSI

Oleh:
HANIF MURNIA ATMA
155090207111015



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020



**Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidatif Ekstrak
Metanol Daun *Catharanthus roseus*, *Vitex trifolia* dan
Campurannya**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam bidang Kimia**

Oleh:

**HANIF MURNIA ATMA
155090207111015**

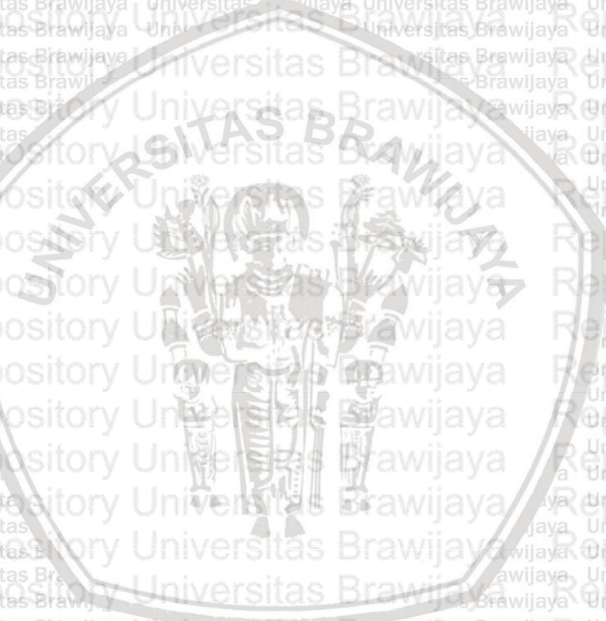


**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020**



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Metanol
Daun *Cutharanthus roseus*, *Vitex trifolia* dan Campurannya**

oleh:
HANIF MURNIA ATMA
155090207111015

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 03 Juli 2020
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197310202002121001

Pembimbing II

Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si
NIP.197007201997021001



Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197310202002121001

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Hanif Murnia Atma

NIM : 155090207111015

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul:

Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Metanol Daun *Catharanthus roseus*, *Vitex trifolia*, dan Campurannya

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, April 2020

Yang menyatakan,



Hanif Murnia Atma

Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Metanol Daun *Catharanthus roseus*, *Vitex trifolia* dan Campurannya

ABSTRAK

Catharanthus roseus dan *Vitex trifolia* merupakan tanaman yang memiliki aktivitas dalam menurunkan radikal bebas yang sangat baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidatif ekstrak metanol daun *C. roseus*, *V. trifolia*, dan campurannya. Tahapan dalam dalam pengujian aktivitas antioksidatif adalah melakukan ekstraksi, kemudian uji fitokimia, penentuan kandungan total flavonoid dan total fenolik. dan pengujian aktivitas antioksidatifnya terhadap radikal DPPH. Hasil penentuan kandungan flavonoid pada ekstrak metanol daun *C. roseus* 117 mg QE/g, ekstrak metanol *V. trifolia* 82 mg QE/g, dan ekstrak campuran 152,500 mg QE/g. Sedangkan kandungan fenolik total dari ekstrak *C. roseus* sebesar 199,054 mg GA/g, ekstrak *V. trifolia* 184, 3026 mg GA/g, dan ekstrak campuran sebesar 338,5343 mg GA/g. Kekuatan antioksidatif ditunjukkan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ untuk ketiga ekstrak lebih kuat dibanding dengan asam askorbat (IC₅₀ 1,80 ppm). IC₅₀ ekstrak tapak dara 0,33 ppm, legundi 0,12 ppm dan ekstrak campuran 0,13 ppm.

Kata kunci: Tapak dara (*Catharanthus roseus*), legundi (*Vitex trifolia*), campuran, antioksidan

Identification and Antioxidative Evaluation of The Methanol Extract from the Leaves of *Catharanthus roseus*, *Vitex trifolia* and Its Mixture

ABSTRACT

Catharanthus roseus and *Vitex trifolia* are native plants with a potency for reducing of free radicals exposure. This research is disclosed recent investigation for the antioxidative the methanol extracts from the leaves of *C. roseus*, *V. trifolia*, and its mixture. The stages involved extraction, phytochemical evaluation, measurement of flavonoid and phenolic content in the extract. Then, antioxidative test was undertaken using DPPH method. The results showed that the flavonoid content in the methanol extract from *C. roseus* leaves was 117 mg QE/g, from *V. trifolia* was 82 mg QE/g, and from its mixture was detected in 152.500 mg QE/g. Meanwhile, the phenolic content in the methanol extract of *C. roseus*, *V. trifolia*, and mixture was 199.054 mg GA/g, 184.3026 mg GA/g, and 338.5343 mg GA/g, respectively. Lastly, the antioxidative activity for the extracts showed a better result than that of ascorbic acid as reference (IC₅₀ 1.80 ppm).

Keywords: Tapak dara (*Catharanthus roseus*), legundi (*Vitex trifolia*), mixture, antioxidant

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Batasan Masalah	3
1.4. Tujuan Penelitian	3
1.5. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tapak Dara (<i>Cathranthus roseus</i>)	4
2.2. Legundi (<i>Vitex trifolia</i>)	5
2.3. Pengujian Fitokimia	7
2.3.1. Uji Flavonoid	7
2.3.2. Uji Alkaloid	7
2.3.3. Uji Triterpenoid	7
2.3.4. Uji Fenol	8
2.3.5. Uji Saponin	8
2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan	8
2.5. Spektrofotometer <i>Ultraviolet-Visible</i> (UV-Vis)	8
BAB III METODOLOGI	10
3.1. Tempat dan Waktu	10
3.2. Alat dan Bahan	10
3.2.1. Sampel Penelitian	10
3.2.2. Bahan Penelitian	10
3.2.3. Alat Penelitian	10
3.3. Tahapan Penelitian	10
3.4. Prosedur Kerja	11

3.4.1. Preparasi dan Ekstraksi Serbuk Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>), Legundi (<i>V. trifolia</i>) dan Campurannya (<i>C. roseus</i> dan <i>V. trifolia</i>).....	11
3.4.2. Uji Fitokimia, Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Total Fenolik	11
3.4.2.1. Uji Flavonoid	11
3.4.2.2. Uji Alkaloid	11
3.4.2.3. Uji Triterpenoid	12
3.4.2.4. Uji Fenol.....	12
3.4.2.5. Uji Saponin	12
3.4.3. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Uji Aluminium Klorida.....	13
3.4.4. Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin- Ciocalteu	13
3.4.5. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>), Legundi (<i>V. trifolia</i>) dan Campurannya.....	13
3.4.6. Karakterisasi Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>), Legundi (<i>V. trifolia</i>) dan Campurannya dengan Spektrofotometer <i>Ultraviolet-visible</i> (UV-Vis).....	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1. Hasil Preparasi dan Ekstraksi Sampel.....	15
4.2. Hasil Uji Fitokimia	15
4.3. Hasil Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Metode Uji Aluminium Klorida	17
4.4. Hasil Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin-Ciocalteu	18
4.5. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan	19
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1. Kesimpulan.....	25
5.2. Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tapak dara (<i>C. roseus</i>).....	4
Gambar 2.2.	Senyawa-senyawa yang terdapat di tapak dara (<i>C. roseus</i>).....	5
Gambar 2.3.	Legundi (<i>V. trifolia</i>).....	6
Gambar 2.4.	Senyawa-senyawa yang terdapat di legundi (<i>V. trifolia</i>).....	7
Gambar 4.1.	Persentasi Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>), Legundi (<i>V. trifolia</i>) dan Campurannya 19	
Gambar 4.2.	Grafik hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun <i>C. roseus</i> . Nilai IC_{50} = 0,33 ppm.	20
Gambar 4.3.	Grafik hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Legundi (<i>V. trifolia</i>). Nilai IC_{50} = 0,12 ppm.	21
Gambar 4.4.	Grafik Hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Campuran. Nilai IC_{50} = 0,13 ppm.	22
Gambar 4.5.	Grafik Hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Asam Askorbat. Nilai IC_{50} = 1,80 ppm.....	22
Gambar 4.6.	Mekanisme penghambatan radikal dari DPPH oleh senyawa didalam ekstrak. R-H dalam lingkaran digambarkan sebagai senyawa antioksidan, yang mampu mengikat radikal dari molekul DPPH.....	23

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. Roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya 16

Tabel 4.2 Hasil Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Metode Uji Aluminium Klorida 17

Tabel 4.3 Hasil Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode *Folin-Ciocalteu*..... 18

Tabel 4.4 Ringkasan Nilai IC₅₀ Sampel Ekstrak dan Asam Askobat 23



DAFTAR LAMPIRAN

A. Skema Kerja	29
A.1. Diagram Alir Penelitian.....	29
A.2. Preparasi Serbuk Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>) dan Legundi (<i>V. trifolia</i>).....	29
A.3. Preparasi Serbuk Daun Campuran	30
A.4. Uji Fitokimia.....	30
A.5. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Uji Aluminium Klorida	31
A.6. Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin- Ciocalteu	32
A.7. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (<i>C. roseus</i>), Legundi (<i>V. trifolia</i>) dan Campurannya.....	33
B. Perhitungan.....	34
B.1. Perhitungan Larutan Kuarsetin.....	34
B.2. Perhitungan Total Flavonoid.....	35
B.3. Pembuatan Larutan Asam Galat.....	36
B.4. Perhitungan Total Fenolik.....	37
B.5. Pembuatan Sampel	38
B.6. Perhitungan Uji Antioksidan.....	41
C. Dokumentasi Penelitian	455

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah antioksidan dari bahan yang teroksidasi melalui pengurangan radikal bebas dan oksidatif. Mekanisme senyawa antioksidan dengan menggabungkan penurunan kerusakan DNA dan peroksidasi lipid dapat mempertahankan fungsi kekebalan tubuh dan menghambat transformasi sel ganas [1].

Oksidasi merupakan sebuah proses penting dalam makhluk hidup dalam pembentukan radikal bebas dan spesies oksigen reaktif lainnya yang terjadi selama proses metabolisme oksidatif. Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) mendorong proses reaksi denaturasi dalam banyak komponen seluler yang menciptakan stress oksidatif dan menghasilkan banyak penyakit, seperti kanker, luka pada lambung, Alzheimer, penuaan dini, peradangan, dan aterosklerosis [2].

Kanker merupakan penyakit dimana sekumpulan sel yang tumbuh tak terkendali diluar batas normal dengan mengabaikan aturan pembelahan sel dan menimbulkan terbentuknya sebuah benjolan yang dikenal sebagai tumor [3]. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), kanker adalah penyebab kematian nomor dua di dunia. Kanker bertanggung jawab atas 8,8 juta kematian pada tahun 2015 dan 70% kematian disebabkan kanker yang terjadi di negara-negara dengan penghasilan menengah ke bawah [4].

Catharanthus roseus (Madagascar periwinkle atau Sadabahar) dikenal sebagai tapak dara, telah banyak dikenal sebagai salah satu tanaman obat yang memiliki peran yang cukup penting dalam pengobatan tradisional. Tanaman ini memiliki senyawa vinblastin dan senyawa vinkristin, merupakan senyawa dari bahan alam pertama yang digunakan dalam proses terapi kanker [5]. *C. roseus* dapat menghasilkan berbagai indol alkaloid monoterpenuoid (MIA) melalui proses biosintesis. MIA termasuk obat kemoterapi yang dapat menghasilkan senyawa vinblastin, vinkristin dan turunan sintesis lainnya yang berasal dari penggabungan katarantin dan vindoline [6].

Vitex trifolia adalah sejenis semak laut dari keluarga *Lamiaceae* atau *Verbenaceae* yang dapat tumbuh hingga 6 meter. Genus *Vitex* banyak dibudidayakan di daerah beriklim sedang dan subtropis yang

memiliki kurang lebih 250 spesies semak dan pohon. Beberapa spesies *Vitex* digunakan dalam pengobatan tradisional di Meksiko [7].

Penelitian sebelumnya oleh Rasool et al. [8] melaporkan bahwa tunas *C. roseus* menunjukkan aktivitas menurunkan radikal bebas yang sangat baik dengan nilai IC_{50} memiliki rentang antara 28,2-119 μ mL. Aktivitas menurunkan radikal bebas dari ekstrak metanol hampir 100% lebih unggul daripada ekstrak lainnya. Sementara, hampir 100% ekstrak metanol menunjukkan nilai IC_{50} yang rendah dan n-heksana menunjukkan nilai IC_{50} yang tinggi. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan n-heksana. Jika dibandingkan dengan BHT antioksidan sintetik, semua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah. Urutan nilai IC_{50} yang ditunjukkan oleh ekstrak tunas *C. roseus*, yaitu BHT < M (100% metanol) < E (100% etil asetat) < M1 (80% metanol dan 20% etil asetat) < M2 (60% metanol dan 40% etil asetat) < M3 (40% metanol dan 60% etil asetat) < E2 (60% etil asetat dan 40% kloroform) < E1 (80% etil asetat dan 20% kloroform) < E3 (40% etil asetat dan 60% kloroform) < E4 (20% etil asetat dan 80% kloroform) < C (100% kloroform) < H (100% n-heksana).

Penelitian sebelumnya oleh Saklani et al. [9] melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *V. negundo* dan *V. trifolia* dengan asam askorbat ($IC_{50} = 40,00 \mu$ mL) terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun *V. negundo* menunjukkan angka 77,09% ($IC_{50} = 70,20 \mu$ mL) lebih rendah dibandingkan dengan *V. trifolia* yang menunjukkan angka 74,45% ($IC_{50} = 81,72 \mu$ mL).

Berdasarkan latar belakang di atas, dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi metanol dari daun *C. roseus*, *V. trifolia*, dan campurannya. Kemudian dilakukan variasi komposisi ekstrak daun *C. roseus* dan *V. trifolia* (1:2) dan ekstrak campuran (*C. roseus* dan *V. trifolia*) (2:4). Serta pegujian fitokimia, dan pengujian aktivitas antioksidatifnya terhadap radikal bebas.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini ialah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antioksidatif pada ekstrak metanol daun *C. roseus*?
2. Bagaimana aktivitas antioksidatif pada campuran ekstrak metanol daun *V. trifolia*?
3. Bagaimana aktivitas antioksidatif pada campuran ekstrak metanol daun *C. roseus* dan *V. trifolia*?

1.3. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini ialah sebagai berikut:

1. Tanaman yang digunakan dengan spesies *C. roseus* dan *V. trifolia*.
2. Komposisi ekstrak tanaman *C. roseus* dan *V. trifolia* dengan metanol 1:2.
3. Komposisi ekstrak campuran (*C. roseus* dan *V. trifolia*) dengan metanol 1:2.
4. Waktu ekstraksi tanaman *C. roseus*, *V. trifolia* dan campurannya adalah 48 jam.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dalam penelitian ialah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antioksidatif pada ekstrak metanol daun *C. roseus*.
2. Mengetahui aktivitas antioksidatif pada ekstrak metanol daun *V. trifolia*.
3. Mengetahui aktivitas antioksidatif pada campuran ekstrak metanol daun *C. roseus* dan *V. trifolia*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini ialah memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidatif pada ekstrak metanol daun *C. roseus*, *V. trifolia* dan campurannya. Diharapkan selanjutnya dalam aplikasi campuran ekstrak metanol campuran (*C. roseus* dan *V. trifolia*) sebagai sumber antioksidan dengan nilai aktivitas yang semakin baik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

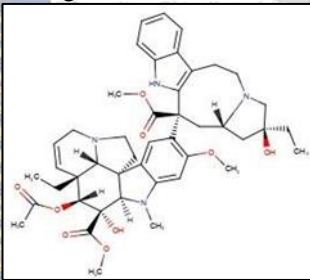
2.1. Tapak Dara (*Catharanthus roseus*)

Tapak dara termasuk dalam genus *Catharanthus* dan keluarga *Apocynaceae* merupakan tanaman asli dari wilayah kepulauan Samudra Hindia dan Madagaskar ini telah tersebar di banyak daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia, termasuk Amerika Serikat bagian selatan. Tumbuhan ini dapat tumbuh setinggi 1 m. Daunnya berbentuk oval dengan diameter 2,5-9,0 cm. Bunganya berwarna putih, ungu, atau merah dengan pusat bunga warna cenderung lebih gelap [10].

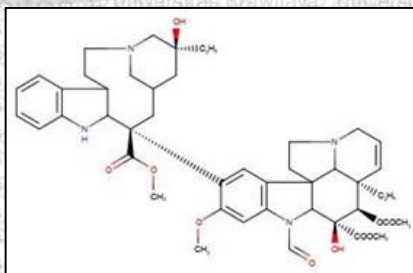


Gambar 2.1. Tapak dara (*C. roseus*) [11]

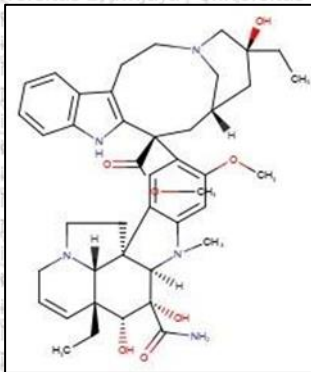
Senyawa-senyawa yang terkandung dalam bagian daun dan batang *C. roseus* adalah sebagai berikut:



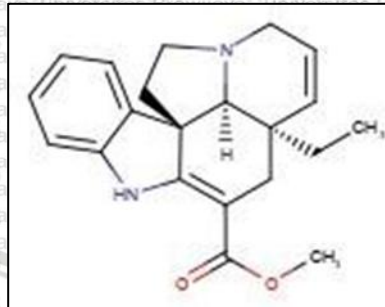
Vinblastin



Vinkristin



Vindesin



Tabersonin

Gambar 2.2. Senyawa-senyawa yang terdapat di tapak dara (*C. roseus*) [11]

C. roseus merupakan tanaman obat yang cukup penting dalam proses kemoterapi kanker [10]. Sejak 1950an, peneliti terus memperhatikan kandungan alkaloid pada *C. roseus*, terutama vinkristin. Vinkristin dapat diaplikasikan sebagai obat dalam berbagai jenis karsinoma, termasuk limfoma, kanker payudara dan leukimia. Vinkristin juga dapat mencegah polimerisasi dengan mengikat tubulin dan menghambat mitosis. Meskipun, ada beberapa garis sel kanker seperti karsinoma lambung manusia SGC7901, kanker paru-paru manusia PC-9, dan lainnya tidak memiliki kemampuan untuk menyerap vinkristin, namun dalam proses produksi obat-obatan nano untuk mengatasi resistensi ini telah dipertimbangkan serta ditinjau dalam beberapa tahun terakhir [12].

2.2. Legundi (*Vitex trifolia*)

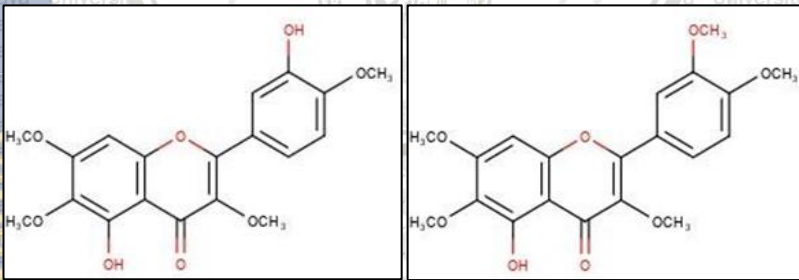
Legundi termasuk dalam genus *Vitex* dan keluarga *Lamiaceae* yang tersebar di Asia, Australia, dan kepulauan Polinesia [13]. Keluarga *Vitex* terdiri kurang lebih 250 spesies semak dan pohon serta banyak dibudidayakan di daerah beriklim sedang maupun subtropis [14]. Tumbuhan ini dapat tumbuh setinggi 50-150 cm dan memiliki warna coklat, agak halus. Daunnya berjumlah 1-3 sebaran dan berbentuk lonjong sampai oval dengan diameter 1-4 cm [13].



Gambar 2.3. Legundi (*V. trifolia*) [14]

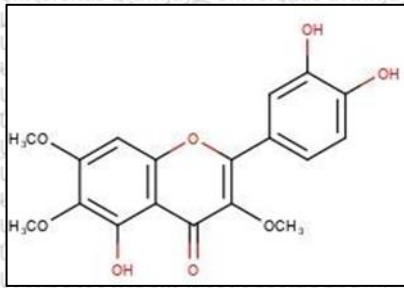
Daun *V. trifolia* mengandung flavonoid, sterol dan terpenoid, yang dapat diaplikasikan sebagai obat nyeri rematik dan keseleo. Ekstrak etanol daun *V. trifolia* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap sebagian besar gram positif dan gram negatif. Aktivitas hepatoprotektif yang signifikan dari ekstrak etanol dari *V. trifolia* dalam karbon tetraklorida yang diinduksi pada kerusakan hati tikus Wistar jantan [15].

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam bagian buah dan daun *V. trifolia* adalah sebagai berikut:



Kastisin

Artemetin



2',3',5-Trihidroksi-3,6,7-trimetosilavon

Gambar2.4. Senyawa-senyawa yang terdapat di legundi (*V. trifolia*) [16]

2.3. Pengujian Fitokimia

2.3.1. Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel yang telah diekstraksi dengan pelarut, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid [17].

2.3.2. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,50 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 mL kloroform dan 3 tetes ammonia. Fraksi kloroform kemudian dipisah dan diasamkan dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M. Lapisan asam dipisah ke dalam 3 bagian dan disebut sebagai bagian A, B dan C. Lapisan A ditambahkan pereaksi Meyer, lapisan B ditambahkan pereaksi Dragendroff dan lapisan C ditambahkan pereaksi Wagner. Diamati timbulnya endapan oleh masing-masing pereaksi. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pereaksi Meyer, endapan merah oleh pereaksi Dragendroff dan endapan coklat oleh pereaksi Wagner [18].

2.3.3. Uji Triterpenoid

Sampel sebanyak 50-100 mg diletakkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat sampai semua sampel terendam, dibiarkan 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke tabung reaksi dan

ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Perubahan warna yang terjadi diamati dan intensitas warna yang dihasilkan digunakan sebagai ukuran relatif kandungan triterpenoid. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu [19].

2.3.4. Uji Fenol

Sebanyak 0,10 gram ekstrak kemudian ditambahkan 5 mL akuades dan didihkan selama 5 menit. Selanjutnya, dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 5 tetes dan diamati perubahan warna yang terjadi. Perubahan warna menjadi hijau, biru atau hitam menunjukkan adanya senyawa fenol [18].

2.3.5. Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan 10 mL air dikocok kuat-kuat. Sebagai blanko, digunakan 10 mL alkohol dan sedikit air. Bila pada tabung sampel terdapat buih setinggi 3,5 cm dan stabil selama 10 menit, maka ekstrak mengandung glikosida saponin [19].

2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Kemampuan ekstrak tanaman untuk menangkal radikal bebas dengan bantuan senyawa 2, 2-difenil-2-pikrillhidrazil (DPPH). Ekstrak tanaman disiapkan dalam etanol untuk mencapai konsentrasi 1 mg/mL. Larutan (masing-masing 1 mL) dicampur dengan DPPH (1 mL). Setelah 30 menit dalam kegelapan pada suhu kamar (23 °C), absorbansi tercatat pada 517 nm. Sampel kontrol berisi semua reagen kecuali ekstrak. Uji aktivitas antioksidan selain menggunakan larutan DPPH dapat juga menggunakan larutan nitrat oksida (NO) dan larutan asam β -karoten-linoleik [9].

2.5. Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu metode dalam analisis spektroskopi yang dapat memantau dan mengukur interaksi antara ultraviolet dan sinar tampak dengan senyawa kimia yang berbeda dalam rentang panjang gelombang antara 200-780 nm. Metode ini mengexploitasi respon fisik yang berbeda dari cahaya dan analit dalam sampel seperti penyerapan, hamburan, difraksi, refraksi dan refleksi [20]. Fenomena ultraviolet dan penyerapan sinar tampak terbatas pada kromofor spesifik dan beberapa spesies kimia dengan



gugus fungsi molekul yang telah ditentukan. Akibatnya, spektrum serapan karakteristik dapat diperoleh untuk molekul tunggal karena elektron dalam kromofor telah tereksitasi. Analisis kuantitatif berdasarkan spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada hukum Lambert-Beer (**Persamaan 2.1**) yang menunjukkan korelasi antara absorbansi dari larutan dengan konsentrasi analit.

Hukum Lambert-Beer:

$$A = a \cdot b \cdot c \quad \text{(Persamaan 2.1)}$$

dengan A sebagai nilai absorbansi, a sebagai nilai absorptivitas atau koefisien ekstingsi, b sebagai panjang kuvet (cm), dan c sebagai konsentrasi[21].



BAB III METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan dari Januari-April 2020. Tempat pelaksanaan penelitian di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah serbuk daun tapak dara (*C. roseus*) dan legundi (*V. trifolia*) yang diperoleh dari Dinas Kesehatan UPT Laboratorium Herbal Materia Medika, Kota Batu.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah metanol, logam Mg, HCl, kloroform, H_2SO_4 , pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff, pereaksi Bouchardat, CH_3COOH , $FeCl_3$, alkohol, kuarsetin, etanol 96%, $NaNO_2$, $AlCl_3$, NaOH, $C_7H_6O_5$, Na_2CO_3 , reagen *Follin-Ciocalteu*, dan larutan DPPH.

3.2.3. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah seperangkat alat gelas, kertas saring, wadah tertutup, *rotary evaporator*, dan *waterbath*. Sedangkan untuk instrumen yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis (1601 SHIMADZU).

3.3. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang akan dilakukan yaitu:

1. Preparasi dan ekstraksi serbuk daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V.trifolia*) dan campurannya (*C. roseus* dan *V. trifolia*)
2. Uji fitokimia, penentuan kandungan total flavonoid dan total fenolik
3. Uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V.trifolia*) dan campurannya
4. Karakterisasi ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V.trifolia*) dan campurannya
5. Analisis data.

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Preparasi dan Ekstraksi Serbuk Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya (*C. roseus* dan *V. trifolia*)

Serbuk daun tapak dara (*C. roseus*) dan legundi (*V. trifolia*) masing-masing sebanyak 300 g diekstraksi menggunakan metanol dengan metode maserasi selama 48 jam dan disaring menggunakan kain nilon berpori hingga mendapat ekstrak metanol. Campuran (*C. roseus* dan *V. trifolia*) masing-masing 150 g dengan total sampel 300 g diekstraksi menggunakan metanol dengan metode maserasi selama 48 jam dan disaring menggunakan kain nilon berpori hingga mendapat ekstrak metanol. Ketiga ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah.

3.4.2. Uji Fitokimia, Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Total Fenolik

3.4.2.1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan sesuai dengan prosedur Ergina, et al. [17] dengan modifikasi. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan, masing-masing ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 2 tetes HCl pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna jingga sampai merah, menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.2.2. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan sesuai dengan prosedur Prameswari & Widjanarko [18] dengan modifikasi. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 0,50 g ekstrak daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya, kemudian ditambahkan dengan 5 mL kloroform dan 3 tetes ammonia. Lapisan kloroform dipisah dan ditambahkan dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M. Lapisan asam dipisah ke dalam 3 bagian dan disebut sebagai bagian A, B dan C. lapisan A ditambahkan pereaksi Meyer sebanyak 3 tetes, lapisan B ditambahkan pereaksi Dragendorf sebanyak 3 tetes dan lapisan C ditambahkan pereaksi Bouchardat sebanyak 3 tetes. Jika terdapat alkaloid, ditandai dengan terbentuk endapan putih oleh

pereaksi Meyer, endapan merah oleh pereaksi Dragendrof dan endapan coklat oleh pereaksi Bouchardat.

3.4.2.3. Uji Triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan sesuai dengan prosedur Sangi, et al. [22] dengan modifikasi. . Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 50-100 mg ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya diletakkan pada plat tetes dan ditambahkan CH₃COOH sampai semua ekstrak terendam, biarkan 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes H₂SO₄ pekat. Jika terbentuk warna jingga atau jingga kecoklatan, menunjukkan adanya triterpenoid.

3.4.2.4. Uji Fenol

Uji fenol dilakukan sesuai dengan prosedur Pramewari & Widjanarko [18] dengan modifikasi. . Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 0,10 g serbuk daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya yang telah diekstraksi dengan pelarut metanol, kemudian ditambahkan 5 mL akuades dan didihkan selama 5 menit. Selanjutnya, dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya ditambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 5 tetes. Jika terbentuk warna coklat kehitaman atau biru kehitaman, menunjukkan adanya fenol.

3.4.2.5. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan sesuai dengan prosedur Sangi, et al. [22] dengan modifikasi. . Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 1 mL serbuk daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya yang telah diekstraksi dengan pelarut metanol, ditambahkan 10 mL air dan dikocok. Sebagai blanko, digunakan 10 mL alkohol dan sedikit air. Jika terbentuk busa permanen selama kurang lebih 10 menit, menunjukkan adanya saponin.

3.4.3. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Uji Aluminium Klorida

Total Flavonoid Content (TFC) dilakukan sesuai dengan prosedur Saklani, et al. [9] dengan modifikasi. Pertama dibuat larutan kuarsetin sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam etanol 96%. Kemudian, kuarsetin hasil pelarutan diencerkan menjadi konsentrasi 200; 100; 50; 25 dan 62,5 ppm. Sampel ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam akuades sebanyak 1 mL. Dipipet 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi dan 5% NaNO₂ sebanyak 60 µL telah ditambahkan. Setelah diinkubasi kurang lebih 5 menit, ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 60 µL. Kemudian diinkubasi kurang lebih 6 menit, ditambahkan NaOH 1 M 400 µL dan volume total dibuat hingga 2 mL dengan akuades. Selanjutnya, larutan sudah homogen dan larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm.

3.4.4. Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin-Ciocalteu

Total Phenolic Content (TPC) dilakukan sesuai dengan prosedur Saklani, et al. [9]. Pertama, dibuat larutan asam galat 2,5 mg/mL dari 50 gram asam galat ditambahkan 1 mL etanol 96% dan diencerkan dengan akuades hingga volume akhir 50 mL. Kemudian asam galat 2,5 mg/mL diencerkan menjadi konsentrasi 40, 30, 20, 10 ppm. Sampel ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya ditimbang masing-masing 1 mg dan dilarutkan dalam etanol 1 mL 96%. Kemudian, masing-masing dipipet 100 µL dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 0,75 mL 7% Na₂CO₃. Diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan 0,75 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan dikocok hingga homogen. Diinkubasi pada suhu 45°C selama 15 menit. Larutan diukur pada panjang gelombang 745 nm.

3.4.5. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan sesuai dengan prosedur Saklani et al. [9] dengan modifikasi. Pertama, dibuat larutan DPPH 2 mg/mL dari 50 gram DPPH ditambahkan 1 mL etanol 96%

dan diencerkan dengan akuades hingga volume akhir 50 mL. Kemudian, diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Sampel ekstrak daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya ditimbang masing-masing 50 mg dan dilarutkan dalam etanol 50 mL 96%. Kemudian, dirubah konsentrasinya menjadi 250; 125; 62,5 dan 31,25 ppm. Diinkubasi selama 5 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Selanjutnya, ditambahkan larutan DPPH dengan perbandingan 1:1 dan diukur pada panjang gelombang 516,5 nm.

3.4.6. Karakterisasi Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya dengan Spektrofotometer Ultraviolet-visible (UV-Vis)

Karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya dengan menggunakan pelarut etanol. Sebanyak 125 μ L ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya dan dilarutkan ke dalam etanol teknis digunakan sebagai pelarut untuk di *baseline* sebelum pengukuran spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang diatur pada 200-800 nm diperoleh spektra hubungan antara absorbansi (A) dengan panjang gelombang (nm).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Penyiapan sampel daun dari tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campuran kedua sampel dengan menyiapkan 300 g dari masing-masing serbuk daun. Serbuk daun diperoleh dari Balai Materia Medica Batu. Termasuk identifikasi taksonomi dikerjakan oleh lembaga tersebut. Untuk penyiapan sampel ekstrak campuran dibuat dari campuran 150 g serbuk daun tapak dara dan 150 g serbuk legundi. Kemudian campuran ini dilakukan maserasi dengan pelarut metanol selama 48 jam. Setelah proses evaporasi dengan penurunan tekanan, dihasilkan ekstrak pekat dari masing-masing sampel.

Hasil ekstraksi serbuk daun tapak dara (*C. roseus*), legundi (*V. trifolia*) dan campurannya masing-masing sebanyak 300 g menggunakan metanol dengan metode maserasi 48 jam, yaitu berat ekstrak tapak dara (*C. roseus*) 28,6 g, legundi (*V. trifolia*) 40,7 g dan campurannya 22,3 g dengan warna ekstrak hijau tua.

4.2. Hasil Uji Fitokimia

Hasil analisis fitokimia dari masing-masing ekstrak disajikan pada **Tabel 4.1**. Pengujian ini untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak. Metode yang digunakan mengikuti [17], [18], dan [19].

Untuk sampel ekstrak serbuk daun legundi (*V. trifolia*) menunjukkan hasil yang positif pada semua golongan senyawa metabolit sekunder. Artinya ekstrak daun legundi mengandung senyawa golongan golongan fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan saponin. Pada ekstrak tapak dara menunjukkan hasil negative pada senyawa golongan saponin. Sedangkan senyawa metabolit sekunder fenolik, flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid terkandung dalam ekstrak daun tapak dara terindikasi positif sebagai senyawa penyusun. Untuk sampel ekstrak dari campuran serbuk daun legundi dan daun tapak dara, memberikan data yang positif pada semua golongan senyawa metabolit sekunder. Yaitu senyawa golongan fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin.

Detil data uji fitokimia ini seperti yang ditunjukkan seperti pada **Lampiran C.1**. Pada uji alkaloid, penambahan pereaksi Meyer pada ekstrak metanol menyebabkan terbentuknya endapan berwarna krem

yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada setiap ekstrak. Proses yang sama dilakukan pada penambahan pereaksi Dragendrof dan Bouchardat. Pada pereaksi Dragendrof terbentuk endapan berwarna jingga sedangkan untuk pereaksi Bouchardat terbentuk endapan coklat.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya

Nama Sampel	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
Legundi <i>(V.trifolia)</i>	Flavonoid	Jingga	+
	Alkaloid		
	Meyer	Endapan krem	+
	Dragendroff	Endapan jingga	+
	Bouchardat	Endapan coklat	+
	Triterpenoid	Jingga	+
	Fenol	Coklat kehitaman	+
	Saponin	Busa permanen	+
	Tapak dara <i>(C. roseus)</i>	Flavonoid	Jingga
Alkaloid			
Meyer		Endapan krem	+
Dragendrof		Endapan jingga	+
Bouchardat		Endapan coklat	+
Triterpenoid		Jingga	+
Fenol		Coklat kehitaman	+
Saponin		Busa permanen	-
Campuran legundi <i>(V. trifolia)</i> dan tapak dara <i>(C. roseus)</i>		Flavonoid	Jingga
	Alkaloid		
	Meyer	Endapan krem	+
	Dragendrof	Endapan jingga	+
	Bouchardat	Endapan coklat	+
	Triterpenoid	Jingga	+
	Fenol	Coklat kehitaman	+
	Saponin	Busa permanen	+



Pengujian secara kuantitatif lebih lanjut terhadap senyawa golongan fenolik dan flavonoid, hasilnya diuraikan pada tahapan selanjutnya. Keberadaan senyawa golongan fenolik dan flavonoid ini menurut laporan sebelumnya Prameswari dan Widjanarko [18] menunjukkan peranan penting dalam mekanisme antioksidatifnya. Atau juga dalam dalam menghambat ataupun penangkapan radikal bebas [17].

4.3. Hasil Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Metode Uji Aluminium Klorida

Penentuan kandungan flavonoid total atau *Total Flavonoid Content* (disingkat TFC) dikerjakan mengikuti prosedur dari Saklani et al.[9], Keberadaan senyawa golongan flavonoid dalam sampel ekstra ditentukan secara spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 745 nm. Larutan standar yang digunakan sebagai referen adalah senyawa kuersetin. Sehingga konsentrasi total flavonoid yang dihasilkan dari masing-masing ekstrak adalah ekuivalen terhadap kuantitas kuersetin (mg QE/g). QE adalah *quersetin equivalence*. Misalnya kandungan total flavonoid dinyatakan dalam kuarsetin 278 mg yang setara dengan per gram ekstrak sampel. Untuk kurva baku larutan kuarsetin disajikan pada **Lampiran B.2**, sedangkan detil hasil pengukuran TFC masing-masing ekstrak serbuk daun dan campurannya diringkaskan pada **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Hasil Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Metode Uji Aluminium Klorida

Sampel	Nilai Absorbansi	A	B	X	TFC (mg QE/g)
Ekstrak Legundi (<i>V. trifolia</i>)	0,2413	0,0019	0,0621	94,3158	117,8947
Ekstrak Tapak dara (<i>C. roseus</i>)	0,1878	0,0019	0,0621	66,1579	82,6974
Ekstrak Campuran	0,2939	0,0019	0,0621	122,000	152,500

Kandungan senyawa flavonoid dari ketiga sampel menunjukkan ekstrak campuran mempunyai nilai tertinggi, yaitu 152,50 mg EQ/g. Sedangkan kandungan flavonoid terendah adalah ekstrak daun tapak dara dengan nilai 82,6974 mg EQ/g. Untuk ekstrak legundi mempunyai kadar 117,8947 mg EQ/g sampel.

4.4. Hasil Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin-Ciocalteu

Penentuan kandungan fenolik total (*Total Phenolic Content*, disingkat TPC) dikerjakan dengan metode Folin-Ciocalteu [9]. Kandungan fenolik total ini disejajarkan dengan kandungan asam galat (*Galic acid equivalence*, disingkat GAE). Pengukuran menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Kurva standar untuk asam galat ditunjukkan pada **Lampiran B.4** Sedangkan ringkasan hasil pengujian fenolik total dari sampel ekstrak legundi, ekstrak tapak dara dan campuran kedua ekstrak, dirangkum pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3 Hasil Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode *Folin-Ciocalteu*

Sampel	Nilai Absorbansi	A	B	X	PC (mg GA/g)
Ekstrak Legundi (<i>V. trifolia</i>)	0,1494	0,0141	0,0091	94,3158	199,0544
Ekstrak Tapak dara (<i>C. roseus</i>)	0,1390	0,0141	0,0091	66,1579	184,3026
Ekstrak Campuran	0,2478	0,0141	0,0091	122,000	338,5343

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa, kandungan fenolik total untuk ketiga ekstrak nilainya diatas 150 mg GA/g. Kandungan fenolik ekstrak tapak dara adalah 184,3026 mg GA/g. Untuk ekstrak legundi kandungannya sebesar 199,0544 mg GA/g. Sedangkan ekstrak campuran tapak dara dan legundi mempunyai fenolik total dua kali lipat, yaitu 338,5343 mg GA/g.

Menurut Ismail, et al. [23], bahwa kandungan fenolik dalam suatu sampel berperan dalam kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat radikal bebas. Secara teoritis, kemampuan senyawa

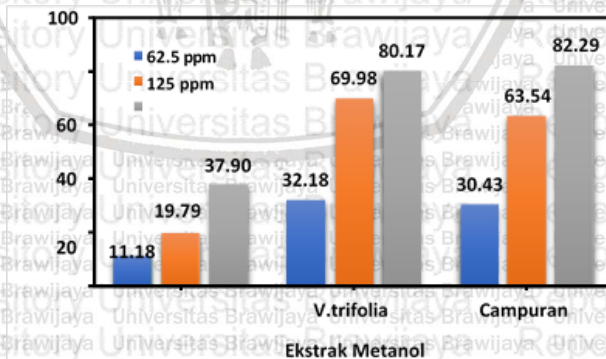
repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

dalam menangkap radikal bebas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi senyawa golongan fenolik ini. Senyawa fenolik ini mempunyai gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada gugus aromatis. Gugus ini dapat menangkap radikal elektron, dan selanjutnya elektron ini distabilisasikan kedalam cincin aromatis. Menerima elektron, artinya senyawa fenolik tersebut mengalami reduksi. Dan semakin banyak senyawa ini tereduksi atau meningkatnya kemampuan dalam menerima elektron, dikatakan kemampuannya sebagai antioksidan semakin meningkat.

4.5. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

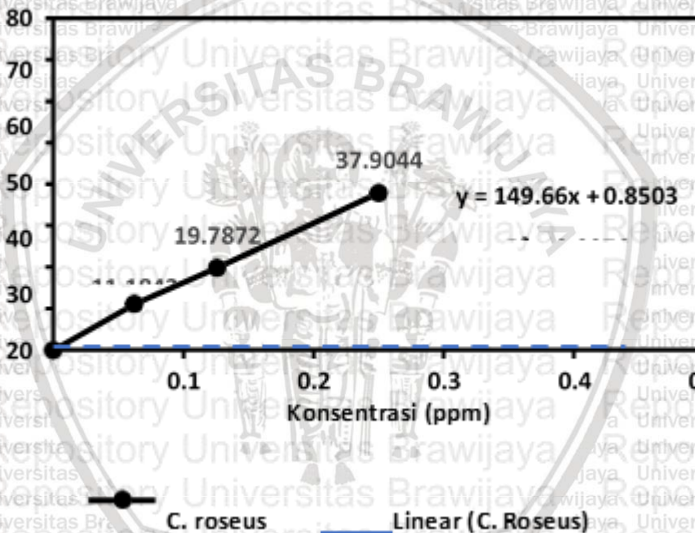
Hasil analisis kuantitatif pada tahapan sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid dan fenolik pada ekstrak tapak dara, legundi dan campuran keduanya memberkan nilai yang berbeda. Secara umum, nilai flavonoid dan fenolik pada ekstrak campuran keduanya adalah yang tertinggi (152,500 mg QE/g dan 338,5343 mg GA/g). Sedangkan yang terendah adalah pada ekstrak tapak dara (82,6974 mg QE/g dan 184,3026 mg GA/g). Perbedaan nilai konsentrasi ini menunjukkan aktivitas antioksidatif yang berbeda. Ringkasan dari variasi konsentrasi terhadap kemampuan ketiga ekstrak dalam menghambat radikal bebas ditunjukkan pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1. Persentase Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya

Secara umum, kenaikan konsentrasi ekstrak dari 62,5 ppm ke 250 ppm meningkatkan nilai persentase dalam menghambat radikal

bebas dari DPPH. Pada sampel ekstrak tapak dara (*C. roseus*), kemampuan meningkat dari 11,18% menjadi 37,90%. Sedangkan pada sampel ekstrak legundi (*V. trifolia*) nilainya meningkat dari 32,18% menjadi 80,17%. Dan kemampuan menghambat radikal elektron dari DPPH yang tertinggi adalah dari sampel ekstrak campuran tapak dara dan legundi, yaitu nilainya dari 30,43% menjadi 82,29%. Kenaikan kemampuan menghambat radikal bebas ini konsisten dengan hasil pada tahapan sebelumnya, yaitu meningkatnya kandungan flavonoid dan fenolik total dari sampel ekstrak campuran ini dibanding sampel ekstrak sendiri.

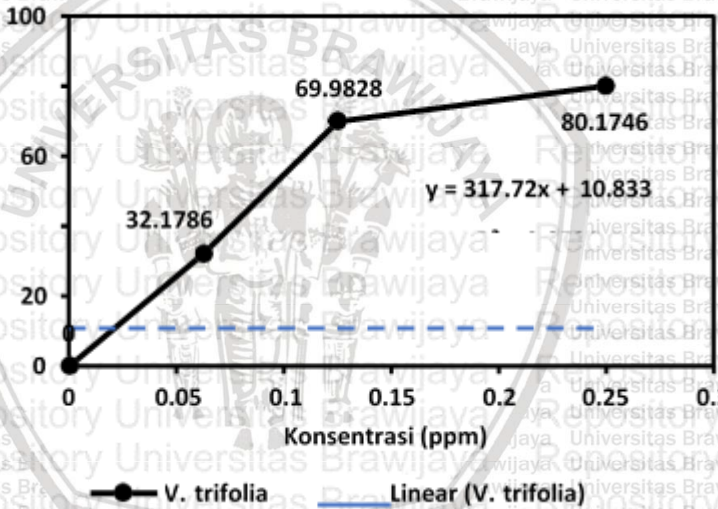


Gambar 4.2. Grafik hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun *C. roseus*. Nilai IC_{50} = 0.33 ppm.

Kemampuan menghambat radikal bebas, lazim dipresentasikan dengan nilai IC_{50} . Nilai ini berupa konsentrasi dari suatu senyawa dalam menghambat radikal bebas sebesar 50%. Untuk mendapatkan nilai IC_{50} dilakukan plotting berupa grafik hubungan antara variasi konsentrasi terhadap persentase menghambat atau persentase inhibisi (%). Dengan menggunakan persamaan regresi linear, maka dapat dihitung nilai konsentrasinya pada kemampuan menghambat 50%. Atau dapat dilakukan secara langsung melalui interpolasi nilai inhibisi 50% pada sumbu y, ditarik garis lurus ke grafik linear dan diteruskan

ke sumbu x. Nilai konsentrasi pada sumbu x yang bersinggungan adalah nilai IC₅₀ untuk sampel tersebut.

Pada **Gambar 4.2**, ditunjukkan grafik hubungan konsentrasi ekstrak tapak dara (*C. roseus*) terhadap nilai inhibisi (%) radikal bebas. Nilai IC₅₀ untuk sampel ekstrak ini adalah 0,33 ppm. Untuk grafik hubungan nilai inhibisi (%) pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak legundi (*V. trifolia*), ditunjukkan pada **Gambar 4.3**. Perhitungan IC₅₀ melalui persamaan regresi yang dihasilkan maupun interpolasi secara langsung ke grafik menghasilkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak legundi sebesar 0,12 ppm.

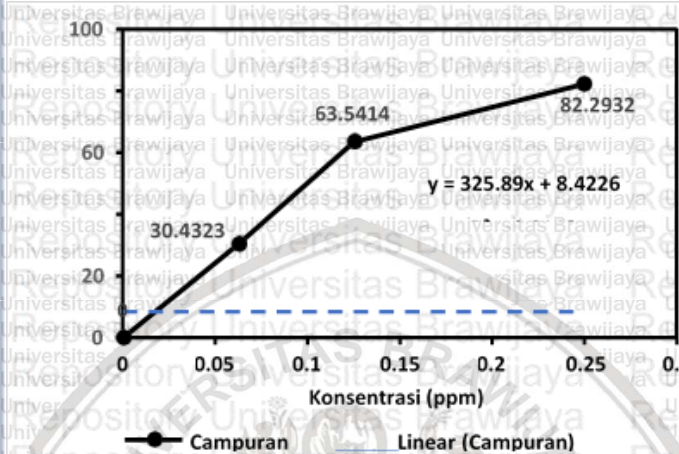


Gambar 4.3. Grafik hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Legundi (*V. trifolia*). Nilai IC₅₀ = 0,12 ppm.

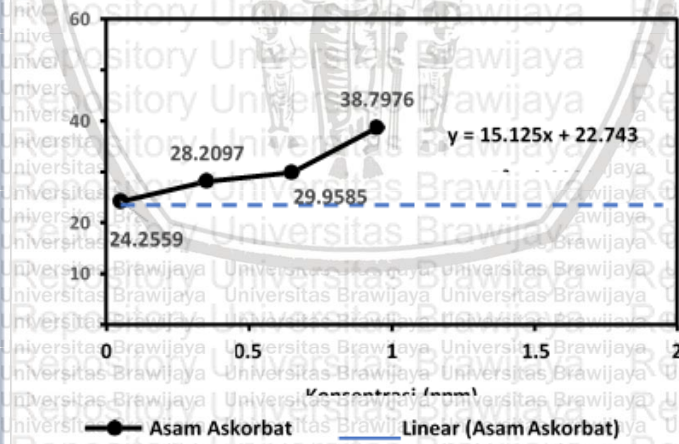
Untuk sampel ekstrak campuran tapak dara (*C. roseus*) dan legundi (*V. trifolia*), hasil grafik hubungan persentase inhibisi radikal bebas terhadap variasi konsentrasinya, disajikan pada **Gambar 4.4**. Nilai penghambatan 50% (IC₅₀) untuk sampel ini memberikan nilai konsentrasi 0,13 ppm.

Untuk memberikan perbandingan kemampuan dalam menghambat radikal bebas dari DPPH, digunakan asam askorbat sebagai senyawa antioksidan pembanding. Grafik hubungan

persentase inhibisi asam askorbat terhadap radikal DPPH pada variasi konsentrasi ditunjukkan pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.4. Grafik Hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Ekstrak Metanol Campuran. Nilai IC₅₀ = 0,13 ppm.

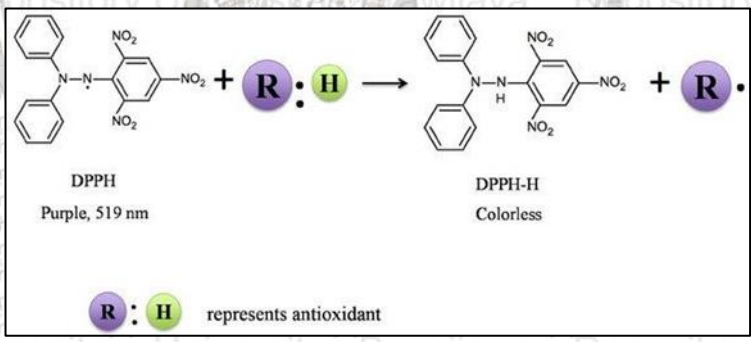


Gambar 4.5. Grafik Hubungan Konsentrasi terhadap % Inhibisi Asam Askorbat. Nilai IC₅₀ = 1,80 ppm.

Tabel 4.4 Ringkasan Nilai IC₅₀ Sampel Ekstrak dan Asam Askobat

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
Ekstrak legundi (<i>V. trifolia</i>)	0,12	Gambar 4.3
Ekstrak tapak dara (<i>C. roseus</i>)	0,33	Gambar 4.4
Ekstrak campuran tapak dara dan legundi	0,13	Gambar 4.5
Asam askorbat	1,80	Gambar 4.6

Berdasarkan **Tabel 4.4** diketahui nilai IC₅₀ ekstrak campuran sebesar 0,13 ppm dan nilai IC₅₀ ekstrak legundi 0,12 ppm. Keduanya dapat dikatakan mempunyai nilai IC₅₀ terendah. Sesuai dengan penelitian Saklani, et al. [9] apabila nilai IC₅₀ memiliki angka yang rendah maka menunjukkan adanya potensi antioksidan yang tinggi. Sedangkan ekstrak tapak dara mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 0,33 ppm. Nilai ini masih jauh lebih kuat aktivitas antioksidannya jika dibanding dengan asam askorbat, yang mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 1,80 ppm.



Gambar 4.6. Mekanisme penghambatan radikal dari DPPH oleh senyawa didalam ekstrak. R-H dalam lingkaran digambarkan sebagai senyawa antioksidan, yang mampu mengikat radikal dari molekul DPPH.

Ekstrak dari serbuk daun kedua tanaman baik dalam bentuk tunggal maupun campurannya potensial digunakan sebagai antioksidan, dan aktivitasnya semakin kuat dalam campuran. Bahkan dibanding dengan dengan asam askorbat. Kekuatan ini berkaitan dengan keberadaan senyawa golongan fenolik, flavonoid, alkaloid,

triterpenoid, dan saponin yang dikandung (**Gambar 4.6**). Golongan senyawa ini (disimbolkan sebagai **R-H**) mampu menangkap atau mengikar radikal elektron dari molekul DPPH. Fenolik dan flavonoid merupakan senyawa aktif bahan alam yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan bagi tubuh dan terbukti dapat menghambat proliferasi beberapa sel kanker. Pemberian antioksidan dapat menurunkan tingkat cekaman oksidatif sehingga meminimalisir adanya penuaan dini dan komplikasi berbagai penyakit [18].



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol daun tapak dara (*C. roseus*) tidak mengandung senyawa golongan saponin, namun mengandung flavonoid, fenol, alkaloid dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan ekstrak ini lebih lemah dibanding dengan ekstrak daun legundi (*V. trifolia*). Nilai IC_{50} adalah 0,33 ppm.
2. Ekstrak metanol daun legundi (*V. trifolia*) mengandung semua senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, alkaloid dan triterpenoid, dan saponin. Nilai IC_{50} untuk ekstrak ini lebih rendah atau lebih kuat dibanding dengan ekstrak daun tapak dara, yaitu sebesar 0,12 ppm.
3. Ekstrak campuran dari kedua serbuk daun tapak dara dan legundi mempunyai nilai IC_{50} 0,13 ppm. Kandungan dari ekstrak menunjukkan positif untuk semua senyawa uji, yaitu flavonoid, fenolik, alkaloid dan triterpenoid, dan saponin.

5.2. Saran

Aktivitas antioksidan dari ekstrak legundi, tapak dara baik sebagai ekstrak tunggal maupun ekstrak campuran mempunyai IC_{50} yang jauh lebih kuat dibanding referensi. Hasil ini memberikan prioritas kedepan untuk menguji lebih lanjut mengenai potensi sebagai bahan antioksidan, antikanker maupun anti-inflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ayob, F. W., Mohamad, J., & Simarani, K. (2019). Antioxidants and Phytochemical Analysis of Endophytic Fungi Isolated from a Medicinal Plant *Catharanthus roseus*. *Borneo Journal of Sciences and Technology*, 1(2), 62–68. <https://doi.org/10.35370/bjost.2019.1.2-09>
2. Umayaparvathi, S., Meenakshi, S., Vimalraj, V., Arumugam, M., Sivagami, G., & Balasubramanian, T. (2014). Antioxidant Activity and Anticancer Effect of Bioactive Peptide from Enzymatic Hydrolysate of Oyster (*Saccostrea cucullata*). *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(3), 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2014.04.006>
3. Sultan Aslantürk, Ö., & Aşkın Çelik, T. (2013). Antioxidant Activity and Anticancer Effect of *Vitex agnus-castus* L. (Verbenaceae) Seed Extracts on MCF-7 Breast Cancer Cells. *Caryologia*, 66(3), 257–267. <https://doi.org/10.1080/00087114.2013.850797>
4. Taher, Z. M., Agouillal, F., R, L. J., Marof, A. Q., Dailin, D. J., Nurjayadi, M., El Enshasy, H. A. (2019). Anticancer Molecules from *Catharanthus roseus*. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 30(3), 147. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm30iss3pp147>
5. Al-Shmgani, H. S. A., Mohammed, W. H., Sulaiman, G. M., & Saadoon, A. H. (2017). Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Catharanthus roseus* Leaf Extract and Assessing Their Antioxidant, Antimicrobial, and Wound-healing Activities. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(6), 1234–1240. <https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1220950>
6. Yu, F., & De Luca, V. (2013). ATP-binding Cassette Transporter Controls Leaf Surface Secretion of Anticancer Drug Components in *Catharanthus roseus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(39), 15830–15835. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307504110>
7. Parkhe, G., & Bharti, D. (2019). Phytochemical Investigation and Determination of Total Phenols and Flavonoid Concentration in Leaves Extract of *Vitex trifolia* Linn. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 9(4-S), 705–707. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i4-A.3554>

8. Rasool, N., Rizwan, K., Zubair, M., Naveed, K. U. R., & Imran, I. (2011). Antioxidant Potential of Different Extracts and Fractions of *Catharanthus roseus* Shoots. *International Journal of Phytomedicine*, 3, 108–114.
9. Saklani, S., Mishra, A., Chandra, H., Atanassova, M., Stankovic, M., Sati, B., Suleria, H. (2017). Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Antioxidant Activities between Ethanol Extracts of *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* L. Leaves by Different Methods. *Plants*, 6(4), 45. <https://doi.org/10.3390/plants6040045>
10. Pham, H. N. T., Sakoff, J. A., Vuong, Q. V., Bowyer, M. C., & Scarlett, C. J. (2019). Phytochemical, Antioxidant, Anti-proliferative and Antimicrobial Properties of *Catharanthus roseus* root Extract, Saponin-enriched and Aqueous Fractions. *Molecular Biology Reports*, 46(3), 3265–3273. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04786-8>
11. Mishra, J. N., & Verma, N. K. (2017). A Brief Study on *Catharanthus roseus*: A Review. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 20–23.
12. Karimi, M., & Raofie, F. (2019). Micronization of Vincristine Extracted from *Catharanthus roseus* by Expansion of Supercritical Fluid Solution. *The Journal of Supercritical Fluids*, 146, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.021>
13. Chantaranothai, P. (2011). A Revision of the Genus *Vitex* (Lamiaceae) in Thailand, 11(2), 91–118.
14. E. R Aweng, Hasanah, N., Nawi M. A. M., Murni Y., N., & M., S. (2012). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of *Vitex trifolia* Var, *Simplicifolia* Associated with Anticancer. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3), 65–68.
15. Shah, S., Dhanani, T., & Kumar, S. (2013). Comparative Evaluation of Antioxidant Potential of Extracts of *Vitex negundo*, *Vitex trifolia*, *Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula*, *Embelica officinalis* and *Asparagus racemosus*. *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*, 1(1), 44–53.
16. Chan, E. W. C., Wong, S. K., & Chan, H. T. (2018). Casticin from *Vitex* species: a short review on its anticancer and anti-inflammatory properties. *Journal of Integrative Medicine*, 16(3), 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.03.001>
17. Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave*

angustifolia) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Metanol, 3, 165–172.

18. Prameswari, O. M., & Widjanarko, S. B. (2014). Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 16–27.

19. Sani, M. S., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2012). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127. <https://doi.org/10.35799/jis.12.2.2012.716>

20. Power, A. C., Chapman, J., Chandra, S., & Cozzolino, D. (2019). Ultraviolet-visible spectroscopy for food quality analysis. In *Evaluation Technologies for Food Quality* (pp. 91–104). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00006-8>

21. Yu, J., Wang, H., Zhan, J., & Huang, W. (2018). Review of recent UV–Vis and infrared spectroscopy researches on wine detection and discrimination. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(1), 65–86. <https://doi.org/10.1080/05704928.2017.1352511>

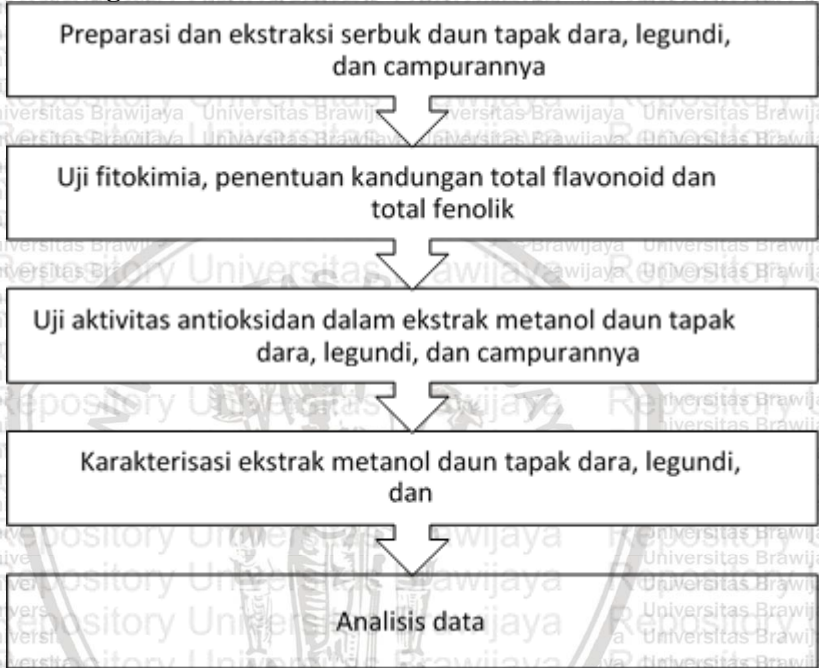
22. Sani, M., & Pontoh, J. (2012). Uji Toksisitas dan Uji Fitokimia Ekstrak Etanol, Petroleum Eter, Etil Asetat dan Air Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127–134.

23. Ismail, J., Runtuwene, M. R. J., & Fatimah, F. (2012). Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 84. <https://doi.org/10.35799/jis.12.2.2012.557>

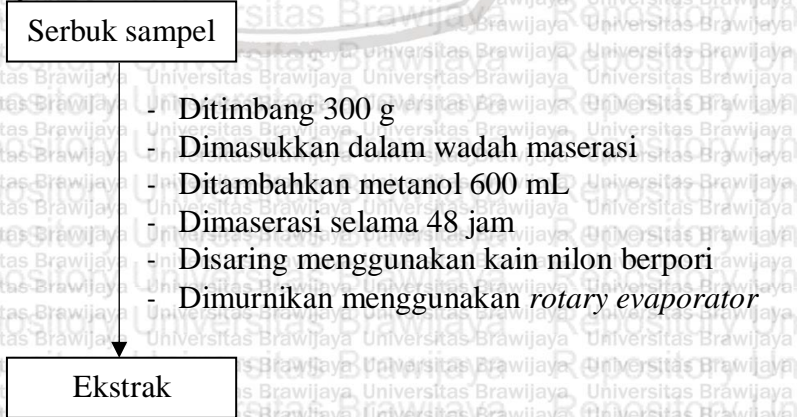
LAMPIRAN

A. Skema Kerja

A.1. Diagram Alir Penelitian



A.2. Preparasi Serbuk Daun Tapak Dara (*C. roseus*) dan Legundi (*V. trifolia*)



- Ditimbang 300 g
- Dimasukkan dalam wadah maserasi
- Ditambahkan metanol 600 mL
- Dimaserasi selama 48 jam
- Disaring menggunakan kain nilon berpori
- Dimurnikan menggunakan rotary evaporator

A.3. Preparasi Serbuk Daun Campuran

Serbuk sampel

- Ditimbang *C. roseus* 150 g dan *V. trifolia* 150 g
- Dimasukkan dalam wadah maserasi
- Ditambahkan metanol 600 mL
- Dimaserasi selama 48 jam
- Disaring menggunakan kain nilon berpori
- Dimurnikan menggunakan *rotary evaporator*

Ekstrak

A.4. Uji Fitokimia

Ekstrak sampel

- Dilarutkan menggunakan aquades panas dengan suhu 60 °C
- Dimasukkan dalam tabung reaksi

Tabung 1
(Flavonoid)

Tabung 2,3,4
(Alkaloid)

Tabung 5
(Saponin)

- Tabung 1 ditambahkan 2 tetes HCL dan serbuk Mg
- Tabung 2 ditambahkan 3 tetes Pereaksi Meyer
- Tabung 3 ditambahkan 3 tetes Pereaksi Dragendrof
- Tabung 4 ditambahkan 3 tetes Pereaksi Bouchardat
- Tabung 5 ditambahkan 2 tetes Pereaksi Bouchardat

Ekstrak sampel

A.5. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dengan Uji Aluminium Klorida

A.5.1. Preparasi Standar

Kuarsetin

- Ditimbang 2,5 mg
- Dilarutkan dalam etanol pa 50ml
- Di konsentrasikan 40,30,20,10 ppm

Larutan konsentrasi standart

- Di pipet 100 μ L dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,75 ml 7% Na_2CO_3
- Di inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
- Ditambahkan 0,75 ml Folin ciocalteu
- Di inkubasi pada suhu 45° C selama 15 menit

Larutan konsentrasi standart

- Di ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 745 nm

Hasil

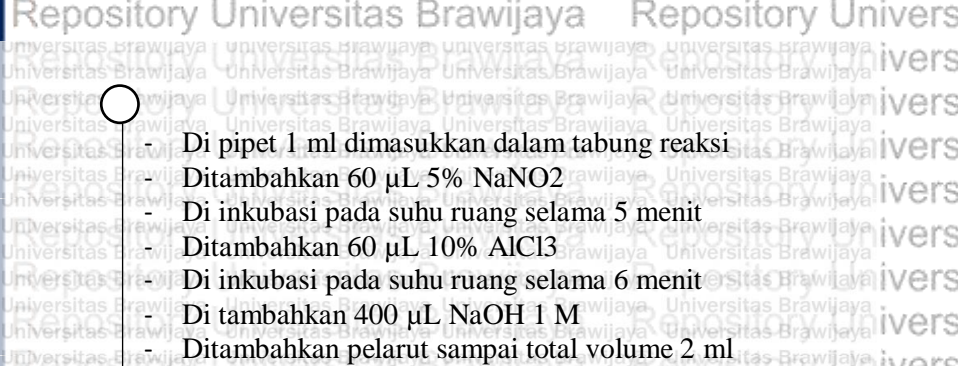
A.5.2. Preparasi Sampel

Sampel ekstrak

- Ditimbang 1 mg
- Dilarutkan dalam aquadest 1ml

Larutan ekstrak





Larutan sampel

- Di ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm

Hasil

A.6. Penentuan Kandungan Total Fenolik dengan Metode Folin-Ciocalteu

A.6.1. Preparasi Standar

Asam galat

- Ditimbang 2,5 mg
- Dilarutkan dalam etanol pa 50ml
- Di konsentrasikan 40,30,20,10 ppm

Larutan konsentrasi standart

- Di pipet 100 µL dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,75 ml 7% Na₂CO₃
- Di inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
- Ditambahkan 0,75 ml Folin ciocalteu
- Di inkubasi pada suhu 45° C selama 15 menit

Larutan konsentrasi standart

- Di ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 745 nm

Hasil

A.6.2. Preparasi Sampel

Sampel

- Ditimbang 1 mg
- Dilarutkan dalam etanol pa 1 ml.

Larutan sampel

- Di pipet 100 μ L dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,75 ml 7% Na₂CO₃
- Di inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
- Ditambahkan 0,75 ml Folin ciocalteu

Larutan sampel

- Di ukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 745 nm

Hasil

A.7. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Tapak Dara (*C. roseus*), Legundi (*V. trifolia*) dan Campurannya

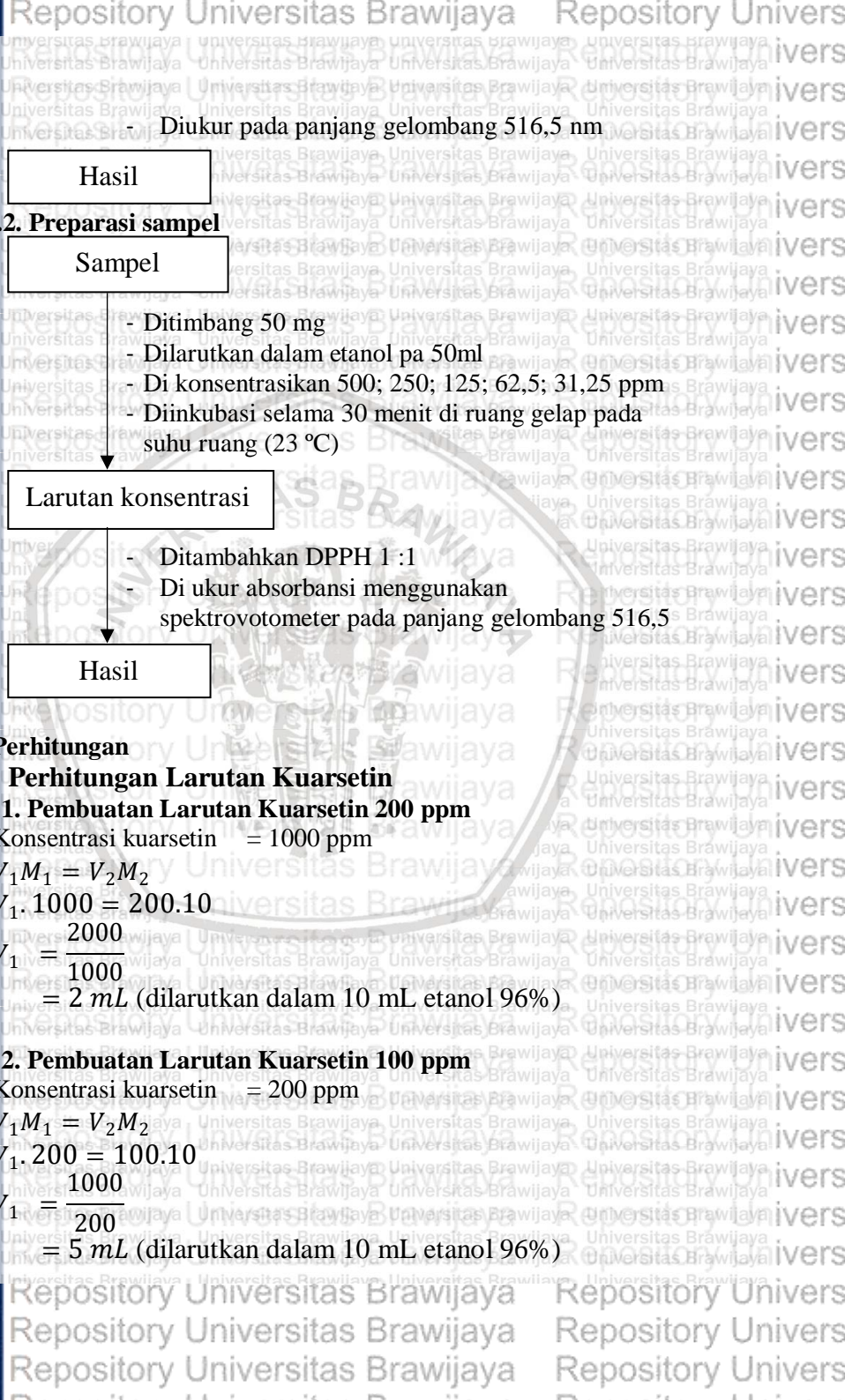
A.7.1. Preparasi DPPH

DPPH

- Ditimbang 2 mg
- Dilarutkan dalam etanol pa 50ml
- Diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang (23 °C)



Larutan konsentrasi



- Diukur pada panjang gelombang 516,5 nm

Hasil

A.7.2. Preparasi sampel

Sampel

- Ditimbang 50 mg
- Dilarutkan dalam etanol pa 50ml
- Di konsentrasikan 500; 250; 125; 62,5; 31,25 ppm
- Diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang (23 °C)

Larutan konsentrasi

- Ditambahkan DPPH 1 : 1
- Di ukur absorbansi menggunakan spektrovotometer pada panjang gelombang 516,5

Hasil

B. Perhitungan

B.1. Perhitungan Larutan Kuarsetin

B.1.1. Pembuatan Larutan Kuarsetin 200 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 1000 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 200 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2000}{1000}$$

$$= 2 \text{ mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)}$$

B.1.2. Pembuatan Larutan Kuarsetin 100 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 200 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 200 = 100 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1000}{200}$$

$$= 5 \text{ mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)}$$

B.1.3. Pembuatan Larutan Kuarsetin 50 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 100 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 100 = 50 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{500}{100}$$

= 0,5 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.1.4. Pembuatan Larutan Kuarsetin 25 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 50 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 50 = 25 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{250}{50}$$

= 5 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.1.5. Pembuatan Larutan Kuarsetin 6,25 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 25 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 25 = 6,25 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{62,5}{25}$$

= 2,5 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.2. Perhitungan Total Flavonoid

B.2.1. Perhitungan Total Flavonoid Tapak Dara (*C. roseus*)

$$X_{C. roseus} = \frac{A_{C. roseus} - B}{A_{kontrol}}$$

$$X_{C. roseus} = \frac{0,1878 - 0,0621}{0,0019}$$

$$= 66,1579$$

$$TFC_{C. roseus} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{C. roseus} = \left(\frac{66,1579}{1000} \right) \frac{10}{0,008}$$

$$= 82,6974 \text{ mg QE/g}$$

$$= 82,6974 \times 10^{-3} \text{ g QE/g}$$

B.2.2. Perhitungan Total Flavonoid Legundi (*V. trifolia*)

$$X_{V. trifolia} = \frac{A_{V. trifolia} - B}{A}$$

$$X_{V. trifolia} = \frac{0,2413 - 0,0621}{0,0019}$$

$$= 94,3158$$

$$\frac{V}{m}$$

$$TFC_{V. trifolia} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{V. trifolia} = \left(\frac{94,3158}{1000} \right) \frac{10}{0,008}$$

$$= 117,8947 \text{ mg QE/g}$$

$$= 11,7895 \times 10^{-2} \text{ g QE/g}$$

B.2.3. Perhitungan Total Flavonoid Campuran

$$X_{\text{Campuran}} = \frac{A_{\text{Campuran}} - B}{A}$$

$$X_{\text{Campuran}} = \frac{0,1878 - 0,0621}{0,0019}$$

$$= 122$$

$$\frac{V}{m}$$

$$TFC_{\text{Campuran}} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{\text{Campuran}} = \left(\frac{122}{1000} \right) \frac{10}{0,008}$$

$$= 152,5 \text{ mg QE/g}$$

$$= 15,25 \times 10^{-2} \text{ g QE/g}$$

B.3. Pembuatan Larutan Asam Galat

B.3.1. Pembuatan Larutan Asam Galat 50 ppm

$$\text{Konsentrasi kuarsetin} = 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 50 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{500}{1000}$$



= 0,5 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.3.2. Pembuatan Larutan Asam Galat 30 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 50 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 50 = 30 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{300}{50}$$

= 6 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.3.3. Pembuatan Larutan Asam Galat 20 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 30 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 30 = 20 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{200}{30}$$

= 6,67 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.3.4. Pembuatan Larutan Asam Galat 10 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 20 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 20 = 10 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{100}{20}$$

= 5 mL (dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%)

B.4. Perhitungan Total Fenolik

B.4.1. Perhitungan Total Flavonoid Tapak Dara (*C. roseus*)

$$X_{C. roseus} = \frac{A_{C. roseus} - B}{A - 0,0091}$$

$$X_{C. roseus} = \frac{0,0141}{9,9527}$$

$$TFC_{C. roseus} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{C. roseus} = \left(\frac{9,9527}{1000} \right) \frac{10}{0,0005} = 199,0544 \text{ mg QE/g}$$

$$= 19,9054 \times 10^{-2} \text{ g QE/g}$$

B.4.2. Perhitungan Total Flavonoid Legundi (*V. trifolia*)

$$X_{V.trifolia} = \frac{A_{V.trifolia} - B}{A}$$

$$X_{V.trifolia} = \frac{0,1390 - 0,0091}{0,0141}$$

$$= 9,2151$$

$$TFC_{V.trifolia} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{V.trifolia} = \left(\frac{9,2151}{1000} \right) \frac{10}{0,0005}$$

$$= 184,3026 \text{ mg QE/g}$$

$$= 18,4302 \times 10^{-2} \text{ g QE/g}$$

B.4.3. Perhitungan Total Flavonoid Campuran

$$X_{\text{Campuran}} = \frac{A_{\text{Campuran}} - B}{A}$$

$$X_{\text{Campuran}} = \frac{0,0141 - 0,0091}{0,0141}$$

$$= 16,9267$$

$$TFC_{\text{Campuran}} = X \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$TFC_{\text{Campuran}} = \left(\frac{16,9267}{1000} \right) \frac{10}{0,0005}$$

$$= 338,5343 \text{ mg QE/g}$$

$$= 33,8534 \times 10^{-2} \text{ g QE/g}$$

B.5. Pembuatan Sampel

B.5.1. Pembuatan Sampel *C. roseus*

B.5.1.1. Pembuatan Sampel *C. roseus* 250 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 1000 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 250 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2500}{1000}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

(dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.5.1.2. Pembuatan Sampel *C. roseus* 125 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 250 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 250 = 125 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1250}{250}$$

 $= 5 \text{ mL}$ (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)**B.5.1.3. Pembuatan Sampel *C. roseus* 62,5 ppm**

Konsentrasi kuarsetin = 125 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 125 = 62,5 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{625}{125}$$

 $= 5 \text{ mL}$ (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)**B.5.2. Pembuatan Sampel *V. trifolia*****B.5.2.1. Pembuatan Sampel *V. trifolia* 250 ppm**

Konsentrasi kuarsetin = 1000 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 250 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2500}{1000}$$

 $= 2,5 \text{ mL}$ (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)**B.5.2.2. Pembuatan Sampel *V. trifolia* 125 ppm**

Konsentrasi kuarsetin = 250 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 250 = 125 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1250}{250}$$

 $= 5 \text{ mL}$ (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.5.2.3. Pembuatan Sampel *V. trifolia* 62,5 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 125 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 125 = 62,5 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{625}{125}$$

= 5 mL (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.5.3. Pembuatan Sampel Campuran**B.5.3.1. Pembuatan Sampel Campuran 250 ppm**

Konsentrasi kuarsetin = 1000 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 = 250 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{2500}{1000}$$

= 2,5 mL (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.5.3.2. Pembuatan Sampel Campuran 125 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 250 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 250 = 125 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{1250}{250}$$

= 5 mL (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.5.3.3. Pembuatan Sampel Campuran 62,5 ppm

Konsentrasi kuarsetin = 125 ppm

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

$$V_1 \cdot 125 = 62,5 \cdot 10$$

$$V_1 = \frac{625}{125}$$

= 5 mL (dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%)

B.6. Perhitungan Uji Antioksidan**B.6.1. Perhitungan Uji Antioksidan *C. roseus*****B.6.1.1. Perhitungan % Inhibisi *C. roseus*****B.6.1.1.1. Perhitungan % Inhibisi *C. roseus* 250 ppm**

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,4338}{0,6988} \times 100$$

$$= 37,9044$$

B.6.1.1.2. Perhitungan % Inhibisi *C. roseus* 125 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,5604}{0,6988} \times 100$$

$$= 19,7872$$

B.6.1.1.3. Perhitungan % Inhibisi *C. roseus* 62,5 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,6205}{0,6988} \times 100$$

$$= 11,1843$$

B.6.1.2. Perhitungan IC₅₀

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - B)}{A}$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - 0,8503)}{149,66}$$

$$= 0,33$$

B.6.2. Perhitungan Uji Antioksidan *V. trifolia***B.6.2.1. Perhitungan % Inhibisi *V. trifolia*****B.6.2.1.1. Perhitungan % Inhibisi *V. trifolia* 250 ppm**

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,1385}{0,6988} \times 100$$

$$= 80,1646$$



$$= 80,1746$$

B.6.2.1.2. Perhitungan % Inhibisi *V. trifolia* 125 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,2097}{0,6988} \times 100$$

$$= 69,9828$$

B.6.2.1.3. Perhitungan % Inhibisi *V. trifolia* 62,5 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,4738}{0,6988} \times 100$$

$$= 31,1786$$

B.6.2.2. Perhitungan IC₅₀

$$IC_{50} = \frac{(50 - B)}{A}$$

$$IC_{50} = \frac{(50 - 10,833)}{317,72}$$

$$= 0,12$$

B.6.3. Perhitungan Uji Antioksidan Campuran

B.6.3.1. Perhitungan % Inhibisi Campuran

B.6.3.1.1. Perhitungan % Inhibisi Campuran 250 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,1237}{0,6988} \times 100$$

$$= 82,2931$$

B.6.3.1.2. Perhitungan % Inhibisi Campuran 125 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6986 - 0,2547}{0,6988} \times 100$$

$$= 63,5414$$

B.6.3.1.3. Perhitungan % Inhibisi Campuran 62,5 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,6986 - 0,4860}{0,6988} \times 100 \\ &= 30,4323 \end{aligned}$$

B.6.3.2. Perhitungan IC₅₀

$$IC_{50} = \frac{(50 - B)}{A}$$

$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50 - 8,4226)}{325,89} \\ &= 0,13 \end{aligned}$$

B.6.4. Perhitungan Uji Antioksidan Asam Askorbat sebagai Pembanding**B.6.4.1. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat****B.6.4.1.1. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat 0,95 ppm**

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,6753 - 0,4133}{0,6753} \times 100 \\ &= 38,7976 \end{aligned}$$

B.6.4.1.2. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat 0,65 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,6753 - 0,4730}{0,6753} \times 100 \\ &= 29,9585 \end{aligned}$$

B.6.4.1.3. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat 0,35 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,6753 - 0,4848}{0,6753} \times 100 \\ &= 28,2097 \end{aligned}$$

B.6.4.1.3. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat 0,05 ppm

$$\text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

$$\text{Inhibisi} = \frac{0,6753 - 0,5115}{0,6753} \times 100$$

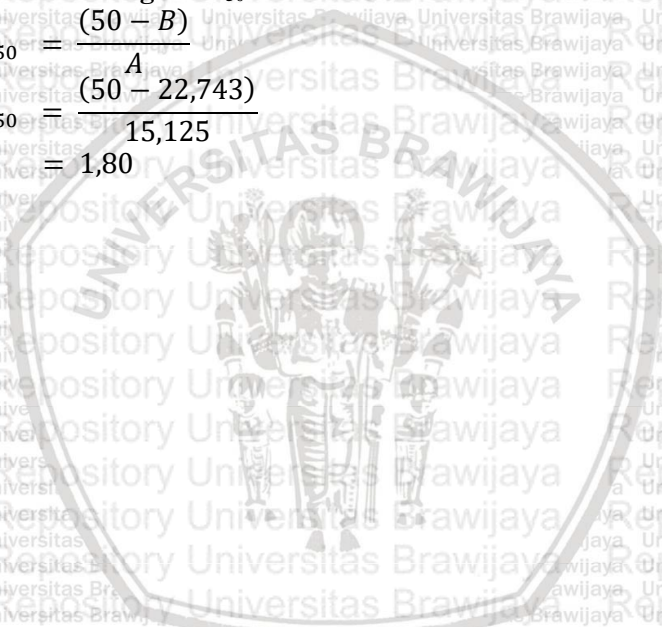
$$= 24,2559$$

B.6.4.2. Perhitungan IC₅₀

$$IC_{50} = \frac{(50 - B)}{A}$$

$$IC_{50} = \frac{(50 - 22,743)}{15,125}$$

$$= 1,80$$





C. Dokumentasi Penelitian

C.1. Uji Fitokimia



Uji flavonoid pada *C. roseus*



Uji flavonoid pada *V. trifolia*



Uji flavonoid pada campuran



Uji fenol pada *C. roseus*



Uji fenol pada *V. trifolia*



Uji fenol pada campuran



Uji saponin pada *C. roseus*



Uji saponin pada *V. trifolia*



Uji saponin pada campuran



Uji alkaloid (Meyer) pada *C. roseus*



Uji alkaloid (Meyer) pada *V. trifolia*



Uji alkaloid (Meyer) pada campuran



Uji alkaloid (Dragendorff) pada *C. roseus*



Uji alkaloid (Dragendorff) pada *V. trifolia*



Uji alkaloid (Dragendorff) pada *V. trifolia*



Uji alkaloid (Bouchardat) pada campuran



Uji alkaloid (Bouchardat)
pada *V. trifolia*



Uji alkaloid (Bouchardat)
pada campuran



Uji triterpenoid pada *C. roseus*



Uji triterpenoid pada *V. trifolia*



Uji triterpenoid pada campuran

C.2. Uji Antioksidan

