

**PENGARUH MODIFIKASI METODE MASERASI
TERHADAP KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN CINCAU HIJAU PERDU
(*Premna oblongifolia* Merr)**

SKRIPSI



**OLEH :
NESA MAR'ATIN IMANI
14 04 098**

**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN PERINTIS
PADANG
2018**

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya berupa ilmu, kesehatan, dan kemudahan, sehingga penulis telah dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH MODIFIKASI METODA MASERASI TERHADAP KADAR FENOLAT TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN CINCAU HIJAU PERDU (*Premna oblongifolia* Merr)”** yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Perintis Padang.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do'a, dukungan, semangat dan kasih sayang dari Ibu/Bapak, saudara dan sahabat. Rasa hormat dan terimakasih yang tulus penulis sampaikan kepada :

1. Ibu Verawati, M.Farm, Apt selaku dosen pembimbing I dan Ibu Miftahur Rahmi, M.Pd selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan, nasehat dan pengarahan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, MSc selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang.
3. Ibu Verawati, M.Farm, Apt selaku pembimbing akademik yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, dukungan, nasehat dan semangat selama penulis menyelesaikan pendidikan Strata satu di Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFI) Padang.

4. Bapak dan Ibu dosen, serta seluruh staf pengajar Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Padang yang selama ini telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan serta nasehat yang sangat berguna bagi penulis selama menjalani pendidikan.
5. Kepala Labor Kimia Farmasi dan kimia bahan alam Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang, Analis dan seluruh pihak yang membantu.
6. Teristimewa, penulis ucapkan terimakasih kepada Ayahanda Zuardi, S.Pd, MM, Ibunda Ermayanti S.Pd, Kakak Muhari Suryadi, SKM, Adik Ulfah Dzakiyyah Sya'bani dan Noviola Riauni Sastra atas segala kasih sayang, dukungan material dan moral serta doa dalam penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan angkatan 2014 terimakasih atas kerjasama, semangat dan kebersamaan dalam suka maupun duka serta rekan-rekan mahasiswa STIFI dan semua pihak yang telah bersedia membantu, meluangkan waktu dalam melakukan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan disebabkan pengalaman dan kemampuan penulis yang masih terbatas. Akhirnya penulis mengharapkan agar skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Atas segala bantuan yang telah diberikan, penulis mendoakan semoga budi baik Bapak dan Ibu akan dibalas oleh Allah SWT. Aamiin Yaa Rabbal Alamin.

Padang, September 2018

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh modifikasi metoda maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr.). Ekstrak total diperoleh dengan cara metoda maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metoda maserasi ini dimodifikasi dengan beberapa cara yaitu maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm (modifikasi I), maserasi dengan stirer pada suhu 40 °C selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm (modifikasi II), maserasi dengan stirer selama 1,5 jam dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 kHz (modifikasi III) dan maserasi dengan stirer selama 1,5 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40°C dengan frekuensi 40 kHz (modifikasi IV). Kadar fenolat total ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu sedangkan aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH. Kadar fenolat total yang diperoleh dari masing-masing ekstrak berturut-turut yaitu 6,08%, 5,55%, 5,95% dan 5,70% dengan kadar fenolat tertinggi diperoleh dari modifikasi I sebesar 6,08% dan kadar fenolat terendah diperoleh dari modifikasi II sebesar 5,55%. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ diperoleh hasil berturut-turut dari masing-masing ekstrak yaitu 143,35 µg/ml, 105,77 µg/ml, 125,31 µg/ml, dan 107,63 µg/ml dengan aktivitas antioksidan paling tinggi diperoleh dari modifikasi maserasi II dan aktivitas antioksidan paling rendah dari modifikasi maserasi I. Berdasarkan hasil analisa statistika dengan SPSS 23.00 menggunakan ANOVA satu arah diperoleh nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa modifikasi metoda maserasi berpengaruh terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun cincau hijau perdu.

ABSTRACT

The research about influence of modification of the maceration method on phenolic content and antioxidant activity of shiny green grass leaves (*Premna oblongifolia* Merr.) has been conducted. Extract was obtained by maceration method with ethanol 70% used as solvent extraction. The maceration technique is modified in several ways, maceration with stirrer for 2 hours at 500 rpm (modification I), maseration with stirrer at 40 OC for 2 hours at 500 rpm (modification II), maceration with stirrer for 1, 5 hours at 500 rpm followed by ultrasonication for 30 minutes with a frequency of 40 kHz (modification III) and maceration with stirrer for 1.5 hours at 40⁰C with a speed 500 rpm followed by ultrasonication for 30 minutes at 40⁰C with a frequency of 40 kHz (modification IV). Phenolic level were determined by using Folin Ciocalteu method whereas antioxidant activity with DPPH radical scavenging method. The total phenolic content obtained from each extract were 6.08%, 5.55%, 5.95% and 5.70% with the highest phenolic levels obtained from modification I of 6.08% and the lowest phenolics

obtained from modification II of 5.55%. The antioxidant activity was indicated by IC50 values obtained by the results of each extract were 143,35 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 105,77 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 125,31 $\mu\text{g} / \text{ml}$, and 107,63 $\mu\text{g} / \text{ml}$ with the highest antioxidant activity obtained from the maceration II modification and the lowest antioxidant activity of the maceration modification I. Based on the results of statistical analysis with SPSS 23.00 using one-way ANOVA obtained p value <0.05 showed that the modification of maceration method have a affect phenolic content and antioxidant activity of the extract of shiny green grass extract.

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
LAMPIRAN	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu.....	4
2.1.1 Klasifikasi.....	4
2.1.2 Nama Daerah.....	4
2.1.3 Morfologi Tumbuhan.....	4
2.1.4 Habitat dan Penyebaran.....	5
2.1.5 Khasiat dan Penggunaan.....	6
2.1.6 Kandungan Kimia Tumbuhan Cincau Hijau Perdu.....	7
2.2 Tinjauan Farmakologi.....	8
2.3 Radikal Bebas.....	9

2.3.1	Fungsi Radikal Bebas	10
2.3.2	Efek Negatif Radikal Bebas	10
2.4	Senyawa Fenolat	11
2.4.1	Tinjauan Umum	11
2.4.2	Sifat Fisika dan Kimia	12
2.4.3	Identifikasi Fenolat	12
2.4.4	Metoda Penetapan Kadar Senyawa Fenolat	12
2.5	Antioksidan	13
2.5.1	Sifat-Sifat Antioksidan	14
2.5.2	Metoda Pengujian Aktivitas Antioksidan	15
2.6	Ekstraksi	15
2.6.1	Metoda Ekstraksi	16
2.7	Tinjauan Umum	19
2.7.1	Spektrofotometer UV-Visible	19
III.	PELAKSANAAN PENELITIAN	22
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2	Metode Penelitian	22
3.2.1	Alat yang Digunakan	22
3.2.2	Bahan yang Digunakan	22
3.3	Prosedur Penelitian	22
3.3.1	Pengambilan Sampel	22
3.3.2	Identifikasi Sampel	23
3.3.3	Penyiapan Sampel	23
3.3.4	Karakterisasi Ekstrak	24

3.3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis.....	24
3.3.4.2 Pemeriksaan Randemen.....	24
3.3.4.3 Pemeriksaan Susut Pengerinagan.....	25
3.3.4.4 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Cincau Hijau Perdu.....	25
3.3.4.5 Identifikasi Kadar Fenolat Total	27
3.3.4.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan	28
3.4 Analisa Data	30
a. Kadar Fenolat Total	30
b. Penentuan Aktivitas Antioksidan.....	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil.....	33
4.2 Pembahasan	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Gambar Daun dan Tumbuhan Cincau Hijau Perdu.....	49
Lampiran 2. Hasil Identifikasi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu	50
Lampiran 3. Skema Kerja Ekstraksi Daun Cincau Hijau Perdu	51
Lampiran 4. Hasil Persentase Rendemen Ekstrak	52
Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak	53
Lampiran 6. Hasil Penentuan Susut Pengeringan Ekstrak	54
Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Ekstrak.....	56
Lampiran 8. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	57
Lampiran 9. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat Spektrofotometer UV-Vis	58
Lampiran 10. Skema Penetapan Kadar Fenolat Total dari Sampel dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	59
Lampiran 11. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Asam	

Galat	60
Lampiran 12. Hasil Perhitungan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam	
Galat	61
Lampiran 13. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Larutan Standar Asam	
Galat	62
Lampiran 14. Hasil Perhitungan Batas Deteksi dan Kuantisasi Asam Galat ...	65
Lampiran 15. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak	67
Lampiran 16. Hasil Uji Statistik Modifikasi Metode Maserasi dengan Kadar	
Fenolat Total dengan Analisa ANOVA Satu Arah	71
Lampiran 17. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	
DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	73
Lampiran 18. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat	
dengan Spektrofotometer UV-Vis	74
Lampiran 19. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun	
Cincau Hijau dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	75
Lampiran 20. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH	76
Lampiran 21. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat	77
Lampiran 22. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau	

Hijau Perdu.....	79
Lampiran 23. Hasil Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Perdu dengan Mg Asam Galat.....	83
Lampiran 24. Hasil Rekapitulasi Hasil Penelitian	85
Lampiran 25. Gambar Alat untuk Ekstraksi.....	86
Lampiran 26. Gambar Instrumen Alat Spektrofotometer UV-Vis	88

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel I.	Hasil Rendemen Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu	52
Tabel II.	Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak	53
Tabel III.	Hasil Penentuan Susut Pengeringan Ekstrak.....	54
Tabel IV.	Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Ekstrak	56
Tabel V.	Hasil Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat.....	61
Tabel VI.	Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Standar Asam Galat	62
Tabel VII.	Hasil Perhitungan Batas Deteksi dan Kuantisasi Asam Galat.....	65
Tabel VIII.	Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak	67
Tabel IX.	Hasil Uji Statistik Modifikasi Metode Maserasi dengan Kadar Fenolat Total dengan Analisa ANOVA Satu Arah.....	71
Tabel X.	Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat	77
Tabel XI.	Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu Modifikasi Maserasi I.....	79

Tabel XII. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu Modifikasi Maserasi II.....	80
Tabel XIII. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu Modifikasi Maserasi III	81
Tabel XIV. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu Modifikasi Maserasi IV	82
Tabel XV. Hasil Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Perdu dengan Mg Asam Galat.....	83
Tabel XVI. Hasil Rekapitulasi Hasil Penelitian	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Tetrandrine dan Fangchinoline.....	8
Gambar 2. Skema Penangkapan Radikal DPPH oleh Antioksidan	15

Gambar 3. Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis.....	19
Gambar 4. Daun Cincau Hijau Perdu.....	49
Gambar 5. Tumbuhan Cincau Hijau Perdu	49
Gambar 6. Hasil Identifikasi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu.....	50
Gambar 7. Skema Kerja Ekstraksi Daun Cincau Hijau dengan Modifikasi Metoda Maserasi.....	51
Gambar 8. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	57
Gambar 9. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis	58
Gambar 10. Skema Penetapan Kadar Fenolat Total Dari Sampel dengan Spektrofotometer UV-Vis	59
Gambar 11. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat.....	60
Gambar 12. Kurva Kalibrasi Asam Galat	61
Gambar 13. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis	73
Gambar 14. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis	74

Gambar 15. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun Cincau Hijau dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	75
Gambar 16. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH	76
Gambar 17. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak dari Modifikasi Maserasi I.....	79
Gambar 18. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak dari Modifikasi Maserasi II.....	80
Gambar 19. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak dari Modifikasi Maserasi III.....	81
Gambar 20. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak dari Modifikasi Maserasi IV	82
Gambar 21. Alat Hotplate dan Magnetik Stirer	86
Gambar 22. Alat Ultrasonikator.....	86
Gambar 23. Alat Rotary Evaporator	87
Gambar 24. Alat Spektrofotometer UV-Vis.....	88

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumatera Barat merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki keanekaragaman tumbuhan, dan beberapa diantaranya berpotensi menjadi obat herbal. Belakangan ini banyak dikenal berbagai macam tumbuhan obat yang dinilai dapat meningkatkan upaya kesehatan. Salah satunya adalah *Premna oblongifolia* Merr yang di kenal masyarakat sebagai cincau hijau perdu atau cincau hijau pohon yang banyak digunakan sebagai bahan minuman penyegar yang harganya terjangkau, mudah didapat

dan rasanya enak. Selain itu, daun cincau hijau juga dikenal masyarakat sebagai obat untuk mendinginkan panas dalam, mengobati radang lambung, demam, penurunan tekanan darah tinggi, batuk, bronchitis, masuk angin, mengendurkan otot, sembelit, diare dan membersihkan organ pencernaan dari zat karsinogen penyebab kanker serta mampu mencegah penyakit degeneratif seperti jantung koroner dan stroke (Hidayat, 2015; Pitojo, 2008).

Akhir akhir ini dunia kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan didalam tubuh. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel (Bendra, 2012). Reaktifitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007). Penelitian tim dari Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor bersama Bagian Anatomi Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia menemukan bahwa tumbuhan cincau hijau memiliki aktivitas antioksidan (Heyne, 2001). Menurut (Heyne, 1987) daun cincau hijau mengandung komponen bioaktif yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, klorofil, karotenoid, polifenol dan unsur-unsur gizi kalsium, fosfor, vitamin A dan vitamin B. Kandungan senyawa fenolat dari cincau hijau yang dapat berfungsi sebagai antioksidan primer karena mampu menghentikan rantai radikal bebas pada oksidasi lipid (Gordon, 1990).

Kadar fenolat dan aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya metoda ekstraksi. Perbedaan metoda ini kemungkinan akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda dan profil kandungan kimia yang berbeda pula (Cannell, 1998). Menurut (Verawati *et al*, 2017) metoda maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan metoda ekstraksi

lainnya. Ada beberapa variasi metoda maserasi, antara lain digesti, maserasi melalui pengadukan kontinyu, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat (Hargono *et al*, 1986).

Dari latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh modifikasi metoda maserasi terhadap perolehan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr). Modifikasi metoda maserasi yang digunakan yaitu maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm, maserasi dengan stirer pada suhu 40 °C selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm, maserasi dengan stirer selama 1,5 jam dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 Khz dan maserasi dengan stirer selama 1,5 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40°C dengan frekuensi 40 Khz. Penentuan kadar fenolat total dengan metoda Folin-Ciocalteu dan aktivitas antioksidan dengan metoda pengukuran serapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometer UV-Visible.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini:

1. Apakah ada pengaruh modifikasi metoda maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) ?
2. Berapa kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) dengan empat modifikasi metoda maserasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh modifikasi metoda maserasi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr).
2. Mengetahui kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) dengan empat modifikasi metoda maserasi.

1.4 Manfaat penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah modifikasi metoda maserasi yang paling tepat untuk memperoleh kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr).
2. Hasil penelitian dapat bermanfaat untuk diaplikasikan dalam bidang industri untuk membuat obat tradisional dengan daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) sebagai bahan utamanya.
3. Memanfaatkan tumbuhan cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr), selain sebagai pangan dapat juga digunakan sebagai obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Biologi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu (*Premna oblongifolia* Merr).

2.1.1. Klasifikasi

Menurut (Ben FA dan Syu, 2008) tumbuhan cincau hijau perdu diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae
Class : Dicotyledonae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Premna*
Spesies : *Premna oblongifolia* Merr

2.1.2 Nama Daerah

Cincau (Sumatera), Camcao, Juju, kepleng (Jawa), *jukut jelly* (jawa barat) dan *suketlele* (jawa tengah), Camcauh dan Tahulu (Sunda) (Pitojo, 2008).

2.1.3 Morfologi

Tanaman cincau *Premna oblongifolia* Merr merupakan sejenis tanaman yang berbentuk perdu atau liana yang berbatang tegak. Daunnya berbentuk oval lonjong dan panjang dengan tulang daun yang agak besar (panjang daun kurang lebih 1.5 kali lebarnya). Panjang daun berkisar antara 8.5-23 cm, lebar daun berkisar antara 3.5-10cm, dan tangkai daun berkisar antara 1.5-4 cm. Kulit daun ada yang berlilin dan ada yang tidak (Pitojo, 2008).

Bunga selalu menghadap keatas. Bunga yang terbentuk di ujung cabang berukuran lebih besar di bandingkan bunga yang terbentuk di ujung-ujung ranting. Bunga cincau perdu tergolong bunga sempurna, termasuk bunga payung majemuk. Karangan bunga terdiri dari tiga pasang tangkai yang bersilangan tempatnya. Masing-masing tangkai membentuk dua anak tangkai. Panjang setiap tangkai tidak sama, terletak sedemikian rupa sehingga kedudukan bunganya menjadi sama tinggi. Di setiap ujung tangkai terdapat kuntum bunga yang tidak sama jumlahnya pada setiap tangkai. Dalam satu karangan bunga terkadang terdapat bunga hingga 400 kuntum. Bunganya berkelamin

ganda dengan mahkota berjumlah 4-5 helai. Kelopak bunga berjumlah 2-5 helai. Umur bunga dari kuncup hingga berbentuk karangan sekitar 13-15 hari. Dari karangan bunga hingga kuntum bunga mekar sekitar 7-10 hari dan umur kuntum bunga setelah mekar sekitar 5-7 hari (Pitojo, 2008).

Buah tidak berdaging dengan bentuk bulat panjang, selagi masih muda bewarna putih, kemudian berubah menjadi keunguan, dan setelah tua bewarna nila. Pada satu tangkai terdapat beberapa butir buah, biasanya tidak lebih dari 12 buah. Biji terletak di dalam buah. Biji-biji ini berukuran kecil, berbentuk bulat panjang, bewarna putih dan biji tidak memiliki endosperma (Pitojo, 2008).

2.1.4 Habitat dan Penyebaran

Tanaman cincau hijau perdu merupakan tanaman asli dari Asia Tenggara yang tersebar di daerah dataran rendah hingga ketinggian 800 m di atas permukaan laut. Umumnya tumbuh secara liar di daerah Jawa, Sumatra dan Sulawesi (Kusharto *et al*, 2008).

Cincau hijau perdu lebih menyukai tempat yang lembab, teduh dan dekat dengan sumber air daripada tempat yang kering dan terpapar cahaya matahari secara langsung. Kisaran pH yang sesuai untuk tanaman ini 5,5-6,5 dengan suasana tanah yang gembur (Ben FA dan Syu, 2008).

2.1.5 Khasiat dan Penggunaan

Beberapa penelitian terdahulu telah mengungkap beberapa khasiat dari tumbuhan *Prema oblongifolia* Merr, antara lain:

1. Pemberian ekstrak daun cincau hijau pada mencit C3H yang ditransplantasi tumor kelenjer susu dapat memperbaiki berat hati dan aktivitas katalase (Chalid, 2003).

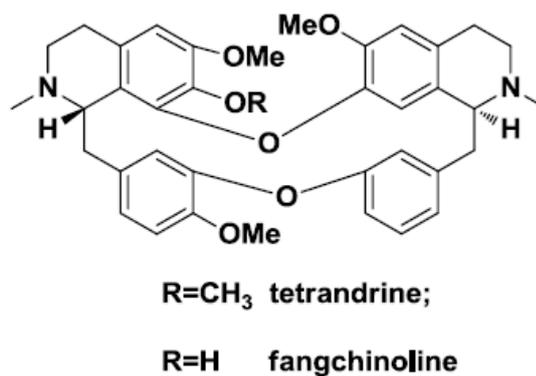
2. Pengaruh konsumsi bubuk gel daun cincau hijau *Premna oblongifolia* Merr terhadap kadar β -carotene dalam hati tikus (Jacobus, 2003).
3. Produk cincau hijau berpengaruh pada berat tumor yang nekrosis, proliferasi limfosit sel T dan B dan memiliki daya sitotoksik yang baik (Pranoto, 2003).
4. Produk daun cincau hijau berpotensi dapat meningkatkan kapasitas antioksidan limfosit mencit C3H (Setiawati, 2003).
5. Minuman seduhan dan bubuk daun cincau hijau mampu menurunkan kadar sitokrom P-420 dan meningkatkan aktivitas glutathion S-transferase pada tikus percobaan (Arisudana, 2003; Nugrahenny, 2003).
6. Ekstrak air daun cincau hijau dapat menurunkan sel kanker dan ekstrak dari akar daun cincau hijau mempunyai aktivitas antioksidan (Mardiah *et al*, 2007).
7. Bubuk daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) dapat menekan pertumbuhan jaringan tumor pada hati mencit C3H yang ditransplantasi sel tumor kelenjer susu (Widyanto, 2010).
8. Ekstrak metanol bubuk daun cincau hijau efektif sebagai antioksidan dan bubuk cincau hijau dapat menghambat pertumbuhan tumor pada mencit C3H yang ditransplantasi tumor payudara (Aryudhani, 2011).
9. Ekstrak dari daun cincau hijau telah diteliti memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari ekstrak metanol serta terdeteksi memiliki senyawa dari fraksi teraktifnya yaitu senyawa flavonoid, glikon, saponin dan tanin (Bendra, 2012).
10. Bubuk gel daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) terbukti menghambat kanker payudara pada mencit C3H yang ditransplantasi sel kanker MMTV (Rochima, 2012).

11. Formulasi daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) sebagai pangan fungsional sumber antioksidan (Khoiriyah dan Amalia, 2014).
12. Penambahan daun cincau hijau pada pembuatan *crackers* dapat berpengaruh pada antioksidan (Ismanto *et al*, 2016).
13. Kandungan flavonoid dari daun cincau hijau berpotensi dimanfaatkan dalam pengobatan tumor (Santoso, 2017).

2.1.6 Kandungan Kimia Tumbuhan Cincau Hijau Perdu

Cincau hijau perdu mengandung karbohidrat, lemak, protein, klorofil, serat dan senyawa-senyawa lainnya seperti polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid serta mineral dan vitamin diantaranya kalsium, fosfor, vitamin A, dan vitamin B (Santoso, 2017).

Selain itu, daun cincau hijau perdu juga mengandung dimetil kurin-1 dimetiodida, isokandrodendrin, alkaloid bisbenzilsokuinolon, serta 5,5 tetandrin (Hidayat dan Rodame, 2015).



Gambar 1. Struktur Tetrandrine dan Fangchinoline (Fu, 2017).

2.2 Tinjauan farmakologi

Menurut (Hidayat dan Rodame, 2015) cincau hijau perdu memiliki rasa agak manis dan bersifat dingin. Dapat digunakan sebagai salah satu bahan dalam minuman

dingin dan juga mengobati berbagai macam penyakit. Cara penggunaan daun dan akar cincau hijau untuk pengobatan secara tradisional yaitu:

1. Demam

Cuci bersih akar cincau hijau kemudian rebus dengan air secukupnya. Setelah mendidih, saring, lalu minum air rebusannya saat demam. Lakukan secara rutin 1 kali sehari.

2. Panas dalam dan sariawan

Cuci bersih 10-20 lembar daun cincau hijau perdu yang agak tua. Remas-remas daun tersebut dengan 1 liter air matang, peras, lalu saring. Kemudian biarkan sampai mengental membentuk gel. Gel inilah yang disebut cincau. Potong agar-agar cincau menjadi kecil-kecil lalu makan cincau tersebut seperti minuman es buah. Lakukan 3 kali sehari masing-masing 1 gelas.

3. Bisul

Cuci bersih beberapa helai daun cincau hijau perdu kemudian lumatkan untuk mengobati bisul. Setelah lembut ditempelkan di bagian yang bernanah untuk mengeluarkan nanah akibat bisul tersebut.

Khasiat cincau hijau diperoleh karena adanya senyawa dimetil kurin-1 dimetiodida. Zat tersebut mampu mengendurkan otot. Senyawa lain seperti isokandrodendin mampu mencegah sel tumor ganas. Cincau sangat tinggi kandungan mineralnya terutama kalsium dan fosfor. Saat ini, cincau sangat baik dikonsumsi untuk program diet karena rendah kalori, tetapi mengandung serat tinggi. Cincau dipercaya mampu meredakan sakit panas dalam, sembelit, perut kembung, demam serta diare.

Adapun seratnya bermanfaat untuk membersihkan organ pencernaan dari zat karsinogen penyebab kanker. Cincau juga bisa membantu menyembuhkan penyakit degeneratif seperti jantung koroner karena cincau memiliki kandungan serat yang tinggi (Hidayat dan Rodame, 2015).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya, sehingga bersifat reaktif dan tidak stabil, serta cenderung untuk berikatan dengan senyawa lain untuk membentuk molekul yang stabil (Winarsi, 2007).

Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk kedalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat dan makanan berlemak. Sehingga menyebabkan berbagai penyakit antara lain seperti penyakit jantung koroner, penyakit kanker, penyakit katarak, penyakit degeneratif dan proses penuaan dini (Winarsi, 2007).

Menurut (Winarsi, 2007) pembentukkan radikal bebas ada 2 cara yaitu:

1. Endogen

Secara endogen radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa kimia dalam tubuh yang berupa hasil samping dari peristiwa kimia tersebut, misalnya: autooksidasi, oksidasi enzimatis dan proses respirasi.

2. Eksogen

Secara eksogen radikal bebas yang dibentuk dari proses luar tubuh bisa disebabkan dari polusi, asap rokok, gas, zat tambahan, makanan, obat-obatan dan radiasi.

2.3.1 Fungsi Radikal Bebas

Selain efek negatif yang diberikan oleh tubuh, radikal bebas dalam jumlah yang terkontrol juga memberikan peranan fisiologi menghasilkan suatu radikal bebas yang berfungsi sebagai bakterisida, dan dalam sintesis DNA radikal bebas dibutuhkan untuk mengaktifkan deoksiribosa nukleotida reduktase yang mengubah ribosa menjadi deoksiribosa (Winarsi, 2007).

2.3.2 Efek Negatif Radikal Bebas

Menurut (Winarsi, 2007) radikal bebas didalam tubuh dalam jumlah berlebih akan memberikan efek negatif, adapun target utama dari aktivitas oksidatif radikal bebas seperti:

a. Membran sel

Membran sel merupakan tempat utama radikal bebas karena mempunyai struktur yang terdiri dari *poly unsaturated fatty acids* yang mudah teroksidasi, dimana peristiwanya disebut sebagai lipid peroksidase.

b. Protein

Protein yang terkena radikal bebas dapat mengalami fragmentasi dan agregasi yang mempengaruhi saluran ion, kegagalan sel-sel reseptor dan kegagalan fosforilasi oksidatif.

2.4 Senyawa Fenolat

2.4.1 Tinjauan Umum

Senyawa fenolat merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Fenolat memiliki cincin aromatik, satu atau lebih gugus hidroksi (OH^-) dan gugus –gugus lain penyertanya. Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya.

Senyawa fenol kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol. Senyawa fenol yang terdapat dalam tumbuhan seperti golongan flavonoid yang merupakan turunan kumarin dan asam sinamat seperti asam galat dan katekin. Turunan flavonoid seperti lignin yang berfungsi sebagai bahan pembangun dinding sel, antosianin sebagai pigmen pada bunga, melanin dan tanin (Harbore, 1987).

Menurut (Thoss, 2002) senyawa fenol cenderung larut dalam air karena umumnya seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Senyawa fenolat dapat dibagi menjadi 3 kelas yaitu:

1. Monofelat (*monohidroksil-benzen*)

Ditunjukkan sebagai senyawa yang berasal dari jalur shikimat (tirosin, fenil propanoid, dan triptopan) dan metabolitnya (asam salisilat).

2. Polifenol

Ditunjukkan sebagai senyawa fenolat larut dalam air, memiliki BM antara 500-3000 dan dapat mempercepat reaksi pada alkaloid, gelatin dan protein-protein lain, contohnya tanin.

3. Polimer fenolat

Ditunjukkan sebagai senyawa yang berasal dari polimerisasi oksidasi acak dari *p-hiroksinamil* alkohol dan sinapil alkohol, contohnya lignin

2.4.2 Sifat Fisika dan Kimia

Sifat senyawa fenolat secara sederhana dalam keadaan murni berupa zat padat tidak bewarna, tetapi biasanya mudah teroksidasi dan bewarna gelap bila bereaksi dengan udara. Kelarutan senyawa fenolat dalam air bertambah bila gugus hidroksilnya bertambah banyak. Senyawa fenolat umumnya larut dalam pelarut organik polar (Harbore, 1987).

2.4.3 Identifikasi Fenolat

Identifikasi senyawa fenolat dapat digunakan dengan cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana ialah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol kepada larutan cuplikan, yang menimbulkan warna hijau, merah ungu, biru atau hitam yang kuat (Harbore, 1987).

2.4.4 Metoda Penetapan Kadar Senyawa Fenolat

Metoda penetapan kadar senyawa fenolat dapat dilakukan dengan metoda Folin-Ciocalteu. Folin-Ciocalteu merupakan metoda penentuan kadar senyawa fenolat yang sering digunakan. Prinsip metode folin-ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel uji. Pereaksi folin-ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin (Folin dan ciocalteu, 1944).

Mekanisme reaksi dengan pereaksi folin-ciocalteu adalah senyawa fenolik bereaksi dengan oksidator fosfomolibdat dibawah kondisi alkalis menghasilkan senyawa fenolat dan kompleks molibdenum tungsten yang bewarna biru. Tingginya intensitas warna biru yang terbentuk setara dengan banyaknya kandungan senyawa fenolik dalam bahan (Singleton and rossi, 1965).

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid radikal bebas. Antioksidan dapat diperoleh dari luar tubuh seperti makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senyawa

fenolat. Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi stabil dan tidak toksik (Winarsi, 2007).

Menurut (Winarsi, 2007) berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi 3 yaitu:

1. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh

Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksidan dismutase, glutathione peroxidase, dan katalase.

2. Antioksidan alami

Antioksidan yang dapat diperoleh dari tumbuhan atau hewan, yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, Flavonoid, dan senyawa fenolik.

3. Antioksidan sintetik

Antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia yaitu Butil Hidroksil Anisol (BHA), Butil Hidroksil toluen (BHT), Tert Butil Hidroksil Kuinon (TBHQ), dan Propil Galat (PG) yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Berdasarkan mekanisme reaksi terhadap radikal bebas, antioksidan dibedakan atas tiga bagian (Winarsi, 2007):

1. Antioksidan Primer

Merupakan antioksidan yang berfungsi menghambat atau memutuskan mekanisme radikal bebas pada proses autooksidasi, dimana antioksidan ini berperan sebagai donor hidrogen dan dapat juga berperan sebagai akseptor elektron.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder atau dikenal antioksidan preventif sifatnya menurunkan kecepatan reaksi inisiasi melalui berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan

ion-ion logam, penangkapan oksigen, penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk non radiasi, penyerapan radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen. Contohnya asam sitrat, asam askorbat.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contohnya adalah enzim metionin sulfoksidan reduktase yang memperbaiki DNA.

2.5.1 Sifat-sifat Antioksidan

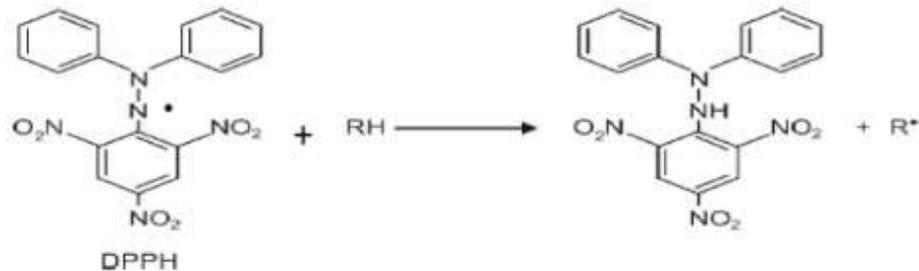
Menurut (Suhartono *et al*, 2002) secara umum antioksidan diharapkan memiliki sifat sebagai berikut:

1. Aman dalam penggunaan
2. Efektif pada konsentrasi rendah
3. Tahan terhadap proses pengolahan
4. Tidak memberikan rasa, bau dan warna pada produk

2.5.2 Metoda Pengujian Aktivitas Antioksidan

Metoda pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metoda DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). Metoda DPPH merupakan uji untuk mengukur kemampuan antioksidan yang secara langsung bereaksi dengan meredam radikal DPPH dan memantau absorpsinya pada 517 nm dengan spektrofotometer (Yu, 2008). Radikal DPPH yang mengandung elektron bebas memberikan serapan yang kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm dan berwarna ungu. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan suatu

radikal hidrogen dari suatu antioksidan penangkap radikal bebas menjadi bentuk DPPH (Prakash *et al*, 2001) .



Gambar 2. Skema Penangkapan Radikal DPPH oleh Antioksidan (Prakash *et al*, 2001).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Sedangkan ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Harbore, 1987).

2.6.1 Metode Ekstraksi

1. Cara dingin

1). Maserasi

Maserasi adalah suatu proses pengestraksian simplisia dalam suatu wadah yang diberi pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Campuran simplisia dan pelarut kemudian dipisahkan, ampasnya akan mengendap dan maserat didapatkan dengan penyaringan sehingga tidak ada sisa

simplisia yang terbawa (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000; Handa *et al*, 2008).

Menurut (Hargono *et al*, 1986) ada beberapa variasi metode maserasi, antara lain digesti, maserasi melalui pengadukan kontinyu, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat. Digesti merupakan maserasi menggunakan pemanasan lemah (40-50°C). Maserasi pengadukan kontinyu merupakan maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus, misalnya menggunakan shaker, sehingga dapat mengurangi waktu hingga menjadi 6-24 jam. Remaserasi merupakan maserasi yang dilakukan beberapa kali. Maserasi melingkar merupakan maserasi yang cairan pengestrak selalu bergerak dan menyebar. Maserasi melingkar bertingkat merupakan maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan pengestrakan yang sempurna.

Keuntungan ekstraksi secara maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah dilakukan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Ekstraksi secara maserasi diperlukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga derajat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan pelarut akan tetap terjaga. Hasil penyarian atau maserat perlu dibiarkan selama waktu tertentu agar zat-zat yang tidak diperlukan mengendap (Depkes, 2000).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat perkolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes, 2000).

3) Ultrasonikasi (Cannell, 1998)

Ultrasonikasi adalah metoda maserasi yang dimodifikasi dimana ekstraksi difasilitasi dengan menggunakan ultrasound (frekuensi tinggi > 20 kHz). Ekstrak ditempatkan dalam botol. Vial ditempatkan dalam penangas ultrasonik, dan USG digunakan untuk menginduksi mekanik pada sel melalui produksi kavitasasi dalam sampel. Efisiensi ekstraksi tergantung pada frekuensi instrumen, panjang, dan suhu sonikasi.

Penggunaan ultrasonik pada dasarnya menggunakan prinsip dasar yaitu dengan mengamati sifat akustik gelombang ultrasonik yang dirambatkan melalui medium yang dilewati. Pada saat gelombang merambat, medium yang dilewatinya akan mengalami getaran. Getaran akan memberikan pengadukan yang intensif terhadap proses ekstraksi. Pengadukan akan meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut sehingga akan meningkatkan proses ekstraksi.

2. Cara Panas

1) Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan penyarian berulang dan pemanasan. Penggunaan metode sokletasi adalah dengan cara memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan kembali menjadi uap untuk membasahi sampel, sehingga penggunaan pelarut dapat dihemat karena terjadi sirkulasi

pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (Depkes, 2000).

2) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes, 2000)

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang pada suhu kamar tidak terekstrak dengan baik (Depkes, 2000).

4) Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes, 2000).

5) Dekokta

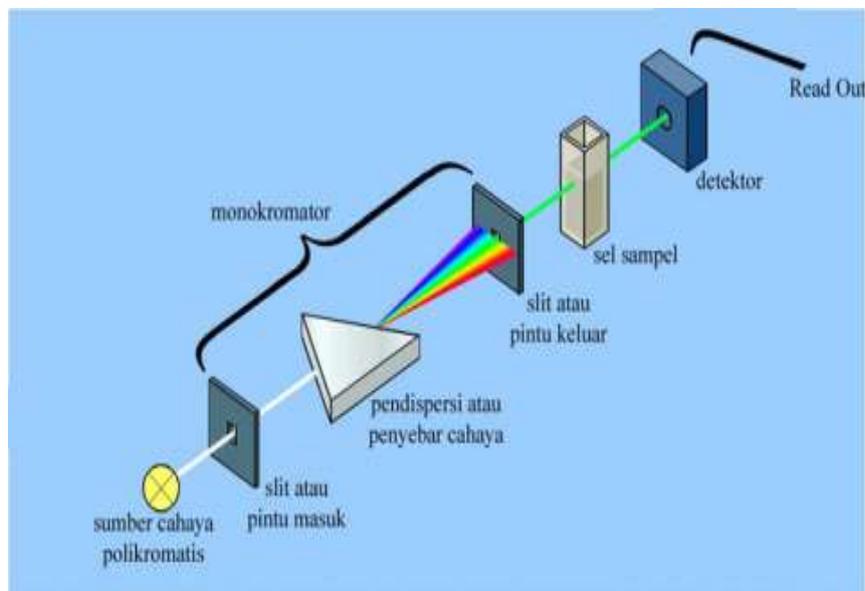
Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit sampai dengan 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan (Depkes, 2000).

2.7 Tinjauan Umum

2.7.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet/cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel (Dachriyanus, 2004)

Spektrofotometer UV- Vis mempunyai 2 kegunaan yaitu untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif. Pada analisa kualitatif dapat dilakukan penentuan struktur molekul berdasarkan spektrum serapan, sedangkan analisa kuantitatif dapat dilakukan pengukuran absorban/transmitan pada suatu panjang gelombang tertentu (Clifford J *et al*, 1982).



Gambar 3. Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 2009)

Keterangan:

1. Sumber cahaya

Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahayahendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup kontinue dan merata pada panjang gelombang yang dikehendaki serta stabil selama waktu yang diperlukan.

2. Monokromator

Sumber cahaya yang biasa digunakan memancarkan sinar kontinue, meliputi panjang gelombang yang bebas, bersifat polikromik yaitu terdiri dari banyak panjang gelombang dengan nilai berbeda. Oleh karena itu digunakan monokromator yang dapat bertindak sebagai pengurai polikromatis menjadi panjang gelombang yang lebih kecil atau menjadi pita yang sempit sehingga mendekati keadaan monokromatis.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan, dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk. Kuvet yang digunakan untuk sinar tampak biasanya terbuat dari kaca/plastic sedangkan untuk UV digunakan kuarsa.

4. Detektor

Detektor yaitu suatu alat yang dapat merubah energi sinar menjadi listrik, dengan menyerap energi foton sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat diukur.

5. Meter/ Rekorder

Merupakan suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor untuk analisa kimia secara spektrofotometri, pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang sama, disebut blanko.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama \pm 3 bulan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Kimia Bahan Alam Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Perintis Padang dan Laboratorium KOPERTIS wilayah X Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat Spektrofotometer UV-Vis, *rotary evaporator* (IKA), hot plate dan magnetik stirer, seperangkat alat ultrasonikasi, desikator, krus porselen, kaca arloji, beaker glass, gelas ukur, timbangan analitik, botol maserasi, kertas saring, corong, oven, tabung reaksi, erlenmeyer, vial, blender, aluminium foil.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr), aquadest, kloroform, etanol 70 %, etanol destilasi, FeCl₃, logam Mg, HCL pekat, H₂SO₄ 2N, H₂SO₄(p), asam galat, methanol p.a, natrium karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), norit, reagen mayer, asam asetat anhidrat.

3.3 Metoda Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa daun cincau hijau perdu sebanyak 1 kg diambil di Jorong Mato Aia Nagari Bomas Koto Baru, Kecamatan Sungai Pagu, Kabupaten Solok Selatan.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Sampel diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang.

3.3.3 Penyiapan Sampel

Sampel segar dibersihkan, dicuci kemudian dikeringanginkan. Setelah kering kemudian diserbukkan. Timbang 4 x 50 gram serbuk yang masing-masing digunakan untuk ekstraksi dengan metoda maserasi dengan modifikasi yang berbeda yaitu:

a) Modifikasi I

Sampel daun cincau hijau perdu sebanyak 50 g serbuk kering di masukkan kedalam beaker gelas kemudian tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml. Magnetik stirer dimasukkan kedalam beaker gelas kemudiaan ditutup dengan aluminium foil. Proses ekstraksi dilakukan diatas hotplate selama 2 jam dengan kecepatan pengadukan 500 rpm. Setelah itu disaring, maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C sehingga didapatkan ekstrak kental.

b) Modifikasi II

Sampel daun cincau hijau perdu sebanyak 50 g serbuk kering di masukkan kedalam beaker gelas kemudian tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml. Magnetik stirer dimasukkan kedalam beaker gelas kemudiaan ditutup dengan aluminium foil. Proses ekstraksi dilakukan diatas hotplate pada suhu 40⁰C selama 2 jam dengan kecepatan pengadukan 500 rpm. Setelah itu disaring, maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C sehingga didapatkan ekstrak kental.

c) Modifikasi III

Sampel daun cincau hijau perdu sebanyak 50 g serbuk kering di masukkan kedalam beaker gelas kemudian tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml. Magnetik stirer dimasukkan kedalam beaker gelas kemudiaan ditutup dengan aluminium foil. Proses ekstraksi dilakukan diatas hotplate selama 1,5 jam dengan kecepatan pengadukan 500 rpm kemudiaan dilanjutkan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40

kHz. Setelah itu disaring, maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C sehingga didapatkan ekstrak kental.

d) Modifikasi IV

Sampel daun cincau hijau perdu sebanyak 50 g serbuk kering di masukkan kedalam beaker gelas kemudian tambahkan pelarut etanol 70 % sebanyak 500 ml. Magnetik stirer dimasukkan kedalam beaker gelas kemudiaan ditutup dengan aluminium foil. Proses ekstraksi dilakukan diatas hotplate pada suhu 40⁰C selama 1,5 jam dengan kecepatan pengadukan 500 rpm dilanjutkan dengan ultrasonikasi pada suhu 40⁰C selama 30 menit dengan frekuensi 40 kHz. Setelah itu disaring, maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C sehingga didapatkan ekstrak kental.

3.3.4 Karakteristik Ekstrak

Terhadap ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) dilakukan karakterisasi sampel dengan beberapa parameter yaitu

3.3.4.1 Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, warna, bau dan rasa (Depkes RI, 2008).

3.3.4.2 Rendemen

Timbang daun cincau hijau perdu kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh ditimbang kembali (Depkes, 2008). Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \times 100 \%$$

3.3.4.3 Penentuan Susut Pengeringan

Masing-masing ekstrak kental yang telah didapatkan kemudian ditentukan susut pengeringannya dengan cara sebagai berikut:

Masukkan krus porselen beserta tutupnya selama 30 menit didalam oven pada suhu 105⁰C, dinginkan kemudian timbang krus (A), lalu masukkan masing-masing ekstrak kedalam krus seberat 1 g goyang krus porselen perlahan supaya ekstrak merata (B). Kemudian masukkan kedalam oven selama 1 jam. Setelah itu keluarkan dari dalam oven dan dinginkan dalam desikator lalu timbang. Lakukan hal seperti diatas sampai diperoleh berat yang konstan (C) (Depkes, 1979). Susut pengeringan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{[(B-A)-(C-A)]}{(B-A)} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat krus setelah oven

B = Berat krus berisi ekstrak sebelum dioven

C = Berat krus berisi ekstrak sesudah dioven

3.3.4.4 Skrining Fitokimia

Di timbang masing-masing ekstrak daun cincau hijau perdu 1 gram, tambahkan kloroform: aquadest (1:1) 10 ml masing-masing kocok dalam tabung reaksi biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan (Harbore, 1987).

1) Lapisan air

1. Pemeriksaan fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl₃, terbentuknya warna hijau / biru menandakan adanya senyawa fenolik.

2. Pemeriksaan flavonoid (Metode Sianidin Test)

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan logam Mg dan 1-2 tetes HCl pekat. Timbulnya warna orange kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3. Pemeriksaan saponin

Masukkan lapisan air kedalam tabung reaksi, kemudian dikocok kuat hingga terbentuk busa yang tidak hilang selama 15 menit.

2) Lapisan kloroform

1. Pemeriksaan terpenoid dan steroid (Metode Simes)

Ambil sedikit lapisan kloroform dan saring melalui pipet yang didalamnya sudah terdapat norit dan kapas hingga diperoleh filtrat yang jernih tidak berwarna. Teteskan filtrat pada plat tetes, biarkan kering kemudian tambahkan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Terbentuk warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan terbentuk warna biru ungu menunjukkan adanya senyawa steroid.

2. Pemeriksaan alkaloid (Metode Culvenore – Fristgerald)

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.4.5 Identifikasi kadar Fenolat Total

1. Pembuatan Reagen

1.1. Penyiapan Larutan Induk Asam Galat (500 µg/ ml)

Sebanyak 12,5 mg asam galat dilarutkan ke dalam 0,5 ml metanol kemudian ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 25 ml dalam labu ukur. Konsentrasi larutan yang diperoleh untuk pengukuran 500 µg/ml (Waterhouse, 1999).

1.2 Penyediaan Larutan Natrium Karbonat 1M

Sebanyak 10,6 g natrium karbonat dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, kocok hingga homogen (Waterhouse, 1999)

1.3 Larutan Induk DPPH (1,2-difenil-2-pikrilhidrazil) 35 µg/ml

Di timbang DPPH sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan metanol didalam labu ukur 100 ml sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari larutan ini dibuat konsentrasi 35 µg/ml dengan cara dipipet 17,5 ml kemudian masukkan kedalam labu ukur 50 ml tambahkan metanol hingga tanda batas (Keinanen, 1996).

1.4 Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 10 mg dari masing-masing ekstrak daun cincau hijau perdu dilarutkan dengan 0,5 ml metanol, kemudian ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 10 ml dalam labu ukur 10 ml. Sehingga diperoleh larutan ekstrak 1000 µg/ml.

2. Pengukuran Kadar Fenolat Total dengan Metode Folin-Ciocalteu

2.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat – Folin Ciocalteu

Larutan induk asam galat (500 µg/ml) di pipet sebanyak 2 ml ke dalam labu ukur 10 ml, lalu encerkan dengan metanol : aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 100 µg/ml. Kemudian di pipet 0,5 ml kemudian campur dengan pereaksi Folin Ciocalteu sebanyak 5 ml (di encerkan 1:10 aquadest). Kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M kocok homogen. Biarkan pada suhu

kamar selama 15 menit dan diukur panjang gelombang serapan maksimum asam galat pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis (Poumorad *et al*, 2006).

2.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat - Folin Ciocalteu

Larutan induk asam galat (500 µg/ml) di pipet (0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 2,4) ml diencerkan dengan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas sehingga di peroleh konsentrasinya 40, 60, 80, 100, 120 µg/ml asam galat. Dari masing-masing konsentrasi larutan di pipet 0,5 ml kemudian di campur dengan 5 ml reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 aquadest) tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M biarkan selama 15 menit, ukur serapannya pada panjang gelombang maksimum asam galat (746 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis (Mosquera *et al*, 2007)

2.3 Pengukuran Kandungan Jumlah Fenolat Total Sampel

Pipet 0,5 ml larutan sampel tambahkan 5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 aquadest), kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1M kocok homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan ukur serapan pada panjang gelombang maksimum asam galat (746 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis, dilakukan sebanyak 3x pengulangan (Poumorad *et al*, 2006)

3.3.4.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan Dengan Metoda DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 4 ml larutan DPPH (35 µg/ml) dan tambahkan dengan 2 ml metanol : aquadest (1:1), masukkan kedalam vial lalu diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Ukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Mosquera *et al*, 2007)

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat

Dipipet 10 ml larutan induk asam galat (500 µg/ml), kemudian dilarutkan dalam campuran metanol dan aquadest (1:1) dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, sehingga didapat larutan asam galat dengan konsentrasi 50 µg/ml. Dari larutan ini masing-masingnya dipipet (0,2 : 0,3 : 0,4 : 0,5 : 0,6) ml kedalam labu ukur 10 ml. Tambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (1 ; 1,5 : 2 ; 2,5 ; 3) µg/ml.

Dipipet sebanyak 2 ml masing-masingnya lalu masukkan kedalam vial, tambahkan 4 ml larutan DPPH 35 µg/ml. Diamkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH (519 nm). Hitung % inhibisi masing-masingnya sehingga diperoleh persamaan regresi liniernya. IC₅₀ asam galat adalah konsentrasi larutan pembanding asam galat yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang dapat di hitung dengan menggunakan regresi linier yang diperoleh (Poumorad *et al*, 2006).

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel

Ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 50 mg, kemudiaan larutkan dengan etanol destilasi dalam labu ukur 50 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/ml. Dari larutan masing-masing sampel dipipet :

Modifikasi 1: (1,2 ; 1,4 ; 1,6 ; 1,8 ; 2,0) ml. Kemudiaan tambahkan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (120, 140, 160, 180, 200) µg/ml.

Modifikasi 2: (0,8 ; 1,0 ; 1,2 ; 1,4 ; 1,6) ml. Kemudiaan tambahkan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (80, 100, 120, 140, 160) µg/ml.

Modifikasi 3: (1,2 ; 1,4 ;1,6 ; 1,8 ; 2,0) ml. Kemudian tambahkan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (120, 140, 160, 180, 200) $\mu\text{g/ml}$.

Modifikasi 4: (0,8 ; 1,0 ;1,2 ; 1,4 ; 1,6) ml. Kemudian tambahkan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (80, 100, 120, 140, 160) $\mu\text{g/ml}$.

Pipet masing-masing konsentrasi dari tiap-tiap sampel sebanyak 2 ml larutan sampel dengan pipet mikro dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 $\mu\text{g/ml}$. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit di tempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH (519 nm) (Mosquera *et al*, 2007).

3.4 Analisa Data

1 Kadar Fenolat Total

Pengolahan data dilakukan berdasarkan perolehan dari pengukuran larutan standar dengan membuat kurva kalibrasi. Konsentrasi sampel dihitung berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar. Rumus persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi:

$$Y = a + bx$$

Dimana: y = Absorban sampel

a = konstanta

b = koefisien regresi

x = konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$)

Sehingga kandungan fenolat total dari berbagai teknik maserasi daun cincau hijau perdu dapat dihitung dengan rumus:

$$K_{sf} = \frac{\text{Konsentrasi fenolat yang terukur}(\mu\text{g/ml})}{\text{Konsentrasi ekstrak dalam larutan}(\mu\text{g/ml})} \times 100 \%$$

Keterangan:

$$K_{sf} = \text{Kadar fenolat total ekstrak sampel}(\mu\text{g/ml})$$

Setelah didapatkan kadar fenolat dari masing-masing ekstrak daun cincau hijau perdu maka dilanjutkan pengolahan data secara statistik menggunakan uji ANOVA satu arah dengan program SPSS 23.00.

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Daun Cincau Hijau Perdu

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH (Molyneux, 2004).

a. % Inhibisi

% inhibisi dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban kontrol}} \times 100 \%$$

Dimana :

Absorban kontrol: Serapan larutan radikal DPPH 35 $\mu\text{g/ml}$

Absorban sampel: Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 $\mu\text{g/ml}$ dikurangi dengan serapan sampel tanpa DPPH

b. Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear. IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50%. Untuk menentukan IC_{50} diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi

ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. Nilai IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% kedalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Identifikasi tumbuhan yang dilakukan di herbarium ANDA, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas Padang menyatakan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah (*Premna oblongifolia* Merr) yang merupakan famili Lamiaceae dengan nomor identifikasi 072/K-ID/ANDA/III/2018 (Lampiran 2, Gambar 6).

2. Karakteristik dari masing-masing ekstrak etanol daun cincau hijau perdu yaitu

- Modifikasi I

Organoleptis : Berbentuk cairan kental, berwarna hijau kecoklatan dan memiliki bau khas (Lampiran 5, tabel II).

Rendemen : 10,58 % (5,29 g) (lampiran 4, tabel I).

Susut pengeringan : 10,95 % (lampiran 6, tabel III).

Skrining fitokimia : Fenolik, flavonoid, saponin, dan steroid (Lampiran 7, Tabel IV).

- Modifikasi II

Organoleptis : Berbentuk cairan kental, berwarna hijau kecoklatan dan memiliki bau khas (Lampiran 5, tabel II).

Rendemen : 11,99 % (5,99) (lampiran 4, tabel I)

Susut pengeringan : 9,18 % (lampiran 6, tabel III)

Skrining fitokimia : Fenolik, flavonoid, saponin, dan steroid

(Lampiran 7, Tabel IV)

- Modifikasi III

Organoleptis : Berbentuk cairan kental, berwarna hijau kecoklatan dan memiliki bau khas (Lampiran 5, tabel II).

Rendemen : 10,21 % (5,10 g) (lampiran 4, tabel I)

Susut pengeringan : 10,36 % (lampiran 6, tabel III)

Skrining fitokimia : Fenolik, flavonoid, saponin, dan steroid

(Lampiran 7, Tabel IV)

- Modifikasi IV

Organoleptis : Berbentuk cairan kental, berwarna hijau kecoklatan dan memiliki bau khas (Lampiran 5, tabel II).

Rendemen : 12,49 % (6,24 g) (lampiran 4, tabel I)

Susut pengeringan : 9,36 % (lampiran 6, tabel III)

Skrining fitokimia : Fenolik, flavonoid, saponin, dan steroid

(Lampiran 7, Tabel IV)

3. Hasil penetapan panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dari asam galat yaitu 746 nm dengan absorbansi 0,560 pada konsentrasi 100 ppm menggunakan spektrofotometer UV-Visible (Lampiran 11, Gambar 11).
4. Hasil perhitungan deretan larutan standar (40,60, 80, 100, dan 120 µg/mL) dengan absorbansi didapat dalam persamaan regresi linear $y = 0,0172 + 0,0054x$ dengan persamaan korelasi $(r) = 0,9991$
(Lampiran 12-13, Tabel V – VI).
5. Hasil pengukuran batas deteksi dan batas kuantisasi asam galat didapat (Lampiran 14, Tabel VII).

6. Hasil penentuan kadar fenolat total dari masing-masing ekstrak sampel menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 746 nm (Lampiran 15, Tabel VIII)

- Modifikasi I = 6,08%
- Modifikasi II = 5,55%
- Modifikasi III = 5,95%
- Modifikasi IV = 5,70%

7. Analisa statistik dengan menggunakan uji ANOVA satu arah dengan program SPSS 23.00 dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan yang digunakan adalah $P < 0,05$ dimana menunjukkan bahwa modifikasi metoda maserasi berpengaruh terhadap kadar fenolat total (Lampiran 16, Tabel IX).

8. Hasil pengukuran serapan panjang gelombang maksimum DPPH pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Visible yaitu panjang gelombang maksimum 519 nm dengan absorban 0,649 (Lampiran 20, Gambar 16).

9. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} diperoleh hasil yaitu standar asam galat diperoleh nilai IC_{50} sebesar 1,72 $\mu\text{g/ml}$ (Lampiran 21, tabel X) dan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun cincau hijau perdu dari masing-masing ekstrak sampel yaitu (Lampiran 22, Tabel XI-XIV).

- Modifikasi I = 143,35 ppm
- Modifikasi II = 105,77 ppm
- Modifikasi III = 125,31 ppm
- Modifikasi IV = 108,63 ppm

10. Kesetaran aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak dengan pembandingan asam galat diperoleh hasil yaitu : (lampiran 23, tabel XV)

- Modifikasi I : Setara dengan 83,32 mg asam galat
- Modifikasi II : Setara dengan 61,48 mg asam galat
- Modifikasi III : Setara dengan 72,83 mg asam galat
- Modifikasi IV : Setara dengan 63,14 mg asam galat

4.2 PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui modifikasi metoda maserasi yang paling tepat untuk memperoleh kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr). Sampel daun cincau hijau perdu diperoleh di Mato Aia Nagari Bomas, Kecamatan Sungai Pagu, Kabupaten Solok Selatan, Padang, Sumatera Barat. Sebelum dilakukan penelitian, sampel diidentifikasi di herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Hal ini merupakan langkah awal untuk memperoleh identitas sampel dari tumbuhan yang digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan diperoleh hasil bahwa sampel yang digunakan adalah daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr) famili Lamiaceae dengan nomor identifikasi 072/K-ID/ANDA/III/2018.

Sampel daun cincau hijau perdu diambil sebanyak 1 kg, kemudian di cuci dengan air, dikeringanginkan selama \pm 10 hari dan diserbukkan. Pengeringan dilakukan untuk mencegah reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan terjadinya penguraian atau merusakkan senyawa didalam sampel daun tersebut. Selain itu proses pengeringan dapat membuat simplisia menjadi lebih awet dan tahan lama (Verawati *et al*, 2017). Sampel diserbukkan bertujuan untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan sampel dengan demikian lebih banyak bagian sampel yang berkontak dengan pelarut sehingga

proses penyarian lebih sempurna (Ahmad *et al*, 2015). Sampel yang telah diserbukkan ditimbang 4 x 50 gram. Masing-masing serbuk daun cincau hijau perdu diekstraksi dengan modifikasi metoda maserasi yaitu maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm, maserasi dengan stirer pada suhu 40⁰C selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm, maserasi dengan stirer selama 1,5 jam dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 kHz dan maserasi dengan stirer selama 1,5 jam pada suhu 40⁰C dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 kHz. Pada penelitian (Verawati *et al*, 2017) dengan metoda maserasi menghasilkan aktivitas antioksidan ekstrak yang lebih kuat dibandingkan dari metoda ekstraksi lainnya. Keuntungan metoda maserasi yaitu menggunakan peralatan yang sederhana, pelaksanaannya mudah tanpa perlakuan khusus yaitu merendam sampel dengan pelarut pengestraksi dengan pengadukan yang kontinu dan dapat digunakan untuk sampel yang tahan pemanasan dan tidak tahan pemanasan (Verawati *et al*, 2017).

Pelarut pengestraksi yang digunakan adalah etanol 70% karena sampel dalam bentuk kering dan kandungan air relatif sedikit sehingga untuk memudahkan membuka pori-pori sampel dan mempercepat penetrasi pelarut kedalam sampel. Etanol merupakan pelarut bersifat universal karena mampu melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Etanol juga bersifat tidak toksik sehingga aman digunakan (Verawati *et al*, 2017).

Hasil ekstraksi dari masing-masing modifikasi metoda maserasi kemudian dipekatkan dan diuapkan dengan *rotary evaporatory* pada suhu 40⁰C dengan tujuan menguapkan pelarut dibawah titik didih pelarut, agar ekstrak yang diperoleh tidak terjadi kerusakan atau senyawa mudah terurai (Ridho, 2013). Ekstrak yang diperoleh

dilakukan karakterisasi antara lain pemeriksaan organoleptis, perhitungan rendemen, pemeriksaan skrining fitokimia dan penentuan susut pengeringan. Setelah itu dilakukan identifikasi kadar fenolat total dan aktivitas antioksidannya.

Pada pemeriksaan organoleptis diperoleh hasil bahwa ekstrak daun cincau hijau perdu dari masing-masing modifikasi metoda maserasi berupa cairan kental, berwarna hijau kecoklatan, dan berbau khas. Ekstrak kental yang diperoleh dari masing-masing modifikasi metoda maserasi yaitu modifikasi I sebesar 5,29 g (10,58%), modifikasi II sebesar 5,99 g (11,99%), modifikasi III sebesar 5,10 g (10,21%) dan modifikasi IV sebesar 6,24 g (12,49%). Penentuan rendemen ekstrak dilakukan untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut, namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa (Tahir *et al*, 2017). Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa metoda maserasi dengan modifikasi suhu 40⁰C dapat meningkatkan kadar ekstraktif senyawa dari sampel. Hal ini terlihat dari hasil persentase rendemen yang diperoleh dimana modifikasi IV dan modifikasi II lebih besar dibandingkan modifikasi I dan III yang hanya menggunakan suhu kamar. Kemungkinan suhu 40⁰C dapat mengembangkan pori-pori sel dari tanaman sehingga memaksimalkan proses ekstraksi dari pelarut. Kemudian penambahan metoda ultrasonikasi hanya sedikit mempengaruhi peningkatan penambahan kadar ekstraktif sampel.

Hasil penentuan susut pengeringan ekstrak daun cincau hijau perdu dengan perbedaan modifikasi metoda maserasi yaitu modifikasi I sebesar 10,95%, modifikasi II sebesar 9,18%, modifikasi III sebesar 10,36% dan modifikasi IV sebesar sebesar 9,36%. Susut pengeringan menunjukkan kadar senyawa mudah menguap termasuk air dalam ekstrak (Depkes, 1979). Dari hasil pengujian modifikasi metoda maserasi tanpa

pemanasan memiliki persentase susut pengeringan yang lebih besar dibandingkan modifikasi metoda maserasi dengan pemanasan. Hal ini mungkin disebabkan karena ekstraksi dengan pemanasan zat-zat yang mudah menguap dapat hilang selama proses ekstraksi berlangsung sehingga angka susut pengeringannya lebih rendah.

Terhadap ekstrak dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui profil kandungan metabolit sekunder dari ekstrak. Dari hasil skrining fitokimia ekstrak dari modifikasi metoda maserasi memiliki profil kandungan kimia yaitu mengandung fenolat, flavonoid, saponin, dan steroid. Menurut (Heyne, 1987) daun cincau hijau perdu juga mengandung alkaloid namun pada penelitian ini tidak diperoleh hasil positif. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kandungan tanah tempat tumbuh, iklim lingkungan, waktu panen, umur, cara pengolahan serta pemilihan pelarut dan metoda ekstraksi. Sehingga perbedaan tempat pengambilan sampel memungkinkan diperolehnya senyawa kimia yang berbeda pula (Rahayu, 2013). Untuk mengetahui lebih lanjut pengaruh modifikasi metoda maserasi terhadap profil kandungan kimia ekstrak maka dilakukan penentuan kadar senyawa fenolat total.

Untuk penentuan kadar senyawa fenolat total dari ekstrak daun cincau hijau perdu menggunakan metoda *Folin-Ciocalteu* yang dikembangkan oleh Singleton dan Rossi. Metoda ini merupakan metoda yang paling umum digunakan untuk penentuan kandungan fenolat total dalam tumbuhan dengan pertimbangan bahwa dengan teknik ini pengerjaannya lebih sederhana, dan reagen *folin-ciocalteu* dapat bereaksi dengan senyawa fenolat membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya. Reagen *folin-ciocalteu* berwarna kuning dan akan membentuk kompleks berwarna biru bila bereaksi dengan senyawa fenolat dalam suasana basa dengan penambahan natrium karbonat (Tahir *et al*, 2017).

Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena asam galat merupakan salah satu jenis golongan senyawa fenolat turunan dari asam hidroksibenzoat, bersifat murni dan mempunyai kestabilan yang tinggi selain itu asam galat lebih murah dan mudah didapat dibandingkan dengan senyawa standar lainnya (Tahir *et al*, 2017). Sebelum dilakukan pengukuran absorban untuk kurva kalibrasi sederetan larutan standar asam galat, terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang serapan maksimum asam galat pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum ini digunakan larutan standar asam galat konsentrasi 100 µg/mL dan didapatkan panjang gelombang serapan maksimum 746,00 nm dengan absorban 0,560. Larutan standar asam galat dibuat dengan deret konsentrasi (40,60,80,100,120) ppm untuk pembuatan kurva kalibrasi dengan pengukuran absorban dari beberapa deret konsentrasi tersebut sehingga didapatkan persamaan regresi linear antara konsentrasi asam galat dengan absorban. Persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi larutan standar asam galat tersebut adalah $y = 0,0172 + 0,0054x$ dengan koefisien korelasi (r) yaitu 0,9991. Nilai r yang mendekati satu yang berarti terdapat korelasi yang sangat tinggi antara absorban dengan kadar senyawa serta menunjukkan linieritas hubungan antara keduanya. Nilai batas deteksi (BD) = 4,72 µg/ml, dan batas kuantisasi (BK) = 15,73 µg/ml. Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terkecil yang masih dapat dideteksi oleh alat sedangkan batas kuantisasi merupakan jumlah terkecil analit yang masih dapat diukur dengan cermat dan seksama (Verawati *et al*, 2017).

Pengukuran kadar fenolat total dari ekstrak daun cincau hijau dari modifikasi metoda maserasi diperoleh hasil yaitu modifikasi I sebesar 6,08%, modifikasi II sebesar 5,55%, modifikasi III sebesar 5,95%, modifikasi IV sebesar 5,70%. Kadar fenolat total

tertinggi diperoleh dari ekstrak dengan modifikasi I yaitu maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm. Berdasarkan analisa statistika dengan uji ANOVA satu arah dengan program SPSS 23.00 terhadap kadar fenolat total dengan perbedaan modifikasi metoda maserasi menunjukkan perbedaaan yang signifikaan dengan nilai signifikan yang diperoleh $p < 0,05$. Hal ini berarti bahwa proses ekstraksi dengan modifikasi metoda maserasi mempengaruhi jumlah fenolat total dari ekstrak daun cincau hijau perdu. Kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan yang menunjukkan bahwa modifikasi II, IV dan III berbeda nyata tetapi modifikasi I tidak berbeda nyata dengan modifikasi III terhadap kadar fenolat totalnya.

Untuk pengujian aktivitas antioksidan sampel digunakan metoda DPPH. Metoda DPPH dipilih karena merupakan metoda sederhana, mudah, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel dengan waktu pengerjaan yang relatif lebih singkat. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan mudah teroksidasi karena cahaya dan udara. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu violet menjadi kuning karena terjadi donor atom hidrogen dari antioksidan ke DPPH (Verawati *et al*, 2017).

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} yaitu larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi dari persen inhibisi (y) dan konsentrasi ekstrak sampel (x) dengan memasukkan nilai 50 sebagai sumbu y kedalam persamaan regresi kemudian dihitung nilai x sebagai kosentrasi IC_{50} . Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan kosentrasi bahan. Masing-masing ekstrak daun cincau hijau perdu ditentukan aktivitas antioksidannya. Kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak daun cincau hijau perdu dibandingkan dengan

zat pembanding yang telah diakui sebagai antioksidan yaitu asam galat. Aktivitas antioksidan dari asam galat ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yaitu 1,72 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antioksidan sampel dari ekstrak daun cincau hijau perdu diperoleh hasil yaitu modifikasi I sebesar 143,35 $\mu\text{g/ml}$, modifikasi II sebesar 105,77 $\mu\text{g/ml}$, modifikasi III sebesar 125,31 $\mu\text{g/ml}$ dan modifikasi IV sebesar 108,63 $\mu\text{g/ml}$. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II memiliki nilai IC_{50} lebih kecil dibandingkan dengan modifikasi I, III dan IV artinya daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II aktivitas antioksidannya lebih kuat dari ketiga modifikasi lainnya, tetapi bila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pembanding asam galat dengan nilai IC_{50} 1,72 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II masih lebih kecil. Hal ini karena pada penelitian ini yang diuji masih berupa hasil ekstraksi belum berupa senyawa murni. Berdasarkan kategori nilai IC_{50} yang dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika IC_{50} 50-100 ppm, antioksidan sedang jika IC_{50} 100-150 ppm, antioksidan lemah jika nilai IC_{50} 150-200 ppm dan antioksidan sangat lemah jika IC_{50} lebih dari 200 ppm (Molyneux, 2004). Kekuatan aktivitas antioksidan dari keempat sampel masih dalam kategori sedang.

Berdasarkan hasil penelitian ini bahwa kadar ekstraktif tertinggi terdapat pada modifikasi IV tetapi kadar fenolatnya rendah, hal ini kemungkinan disebabkan pada modifikasi IV dengan modifikasi suhu 40⁰C dan penambahan metoda ultrasonikasi kemungkinan lebih mengoptimalkan ekstraksi terhadap komponen kimia lain sehingga ketika rendemen meningkat tetapi kadar fenolatnya rendah sehingga hasil ekstraksi banyak bercampur dengan komponen kimia lain. Hal tersebut dapat dilihat pada

modifikasi II dan IV dengan penambahan suhu 40⁰C memiliki %rendemen yang tinggi tetapi kadar fenolatnya rendah dibandingkan modifikasi I dan III yang hanya diekstrak pada suhu kamar. Pada aktivitas antioksidan penambahan suhu 40⁰C tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan sehingga suhu 40⁰C meningkatkan ekstraksi senyawa lain yang berkhasiat sebagai antioksidan. Hal ini menyebabkan tidak terdapat korelasi positif antara kadar fenolat total dengan aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan bahwa yang memberikan aktivitas antioksidan tidak hanya senyawa golongan fenolat saja tetapi dapat pula diberikan oleh senyawa-senyawa golongan lain seperti steroid, dan klorofil dari daun cincau hijau perdu tersebut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa modifikasi metoda maserasi mempengaruhi perolehan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun cincau hijau perdu (*Premna oblongifolia* Merr). Rendemen ekstrak tertinggi diperoleh pada modifikasi IV sebesar 12,49%, kadar fenolat tertinggi diperoleh pada modifikasi I sebesar 6,08% dan aktivitas antioksidan paling kuat dihasilkan oleh ekstrak dari modifikasi II sebesar 105,77 µg/ml.

5.2 Saran

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk dapat melakukan ekstraksi daun cincau hijau perdu menggunakan pelarut yang berbeda dan dapat melakukan penetapan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metoda lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita., Ratulangi, S. A. D., Malik, A., (2015), Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM), *J. Pharm Sci Res*,2(1).
- Arisudana, I. G., (2003), Mempelajari Toksisitas Subkronis Bubuk Gel Daun Cincau Hijau (*Cyclea Barbata* L. Miers Dan *Premna Oblongifolia* Merr.) Terhadap Tikus Percobaan Secara In Vivo [Skripsi], Fakultas Teknologi pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Aryudhani, N., (2011), Mekanisme Aktivitas Antitumor Bubuk Daun Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* Merr .) Pada Mencit C3h Yang Ditransplantasi Tumor Payudara [Tesis], Program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ben FA dan Syu. C., (2008), *Lada Perdu Untuk Bisnis Dan Hobi*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Bendra, A., (2012), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Premna Oblongata* Miq. Dengan Metode Dpph Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif [Skripsi], Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
- Cannell, R. J ., (1998), *Natural Products Isolation (Volume 4)*, Springer Science & Bussines Media, Totowa.
- Chalid, S. Y., (2003), Pengaruh ekstrak cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) dan (*Premna oblongifolia* Merr) terhadap aktivitas enzim antioksidan dan pertumbuhan tumor kelenjar susu mencit C3H [Tesis], Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Clifford J, Creswall., runguist, Olaf A., Camphell and Malcon, M., (1982), *Analisis Spektrum Senyawa Organik (Edisi ke-2)*, ITB, Bandung.
- Dachriyanus, (2004), Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi, *cetakan pertama, Andalas University Press*, Trianda Anugrah Pratama, Padang.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1979), *Farmakope Indonesia Edisi III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000), *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2008), *Farmakope Herbal Indonesia I*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Folin, O. and V. J. Ciocalteau., (1944), On Tyrosine And Tryptophane Determination In Proteins, *Jour.bio.chem*, 73,627-658.
- Fu, S *et al*, (2017), Separation and Activity against Drug-resistant Bacteria of Tetrandrine and Fangchinoline in Lipophilic Alkaloids from *Stephania tetrandra*, 8(3), 298–304.

- Gordon, M. H., (1990), *The Mechanism Of Antioxidant Action in Vitro*, (Dalam B.J.F.Hudson, Ed.), Food Antioxidants, Elsevier Applied Science, London.
- Handa, S. S., Khanuja S. P. S., Longo G., Rakesh, D. D., (2008), *Extraction Technologies For Medical and Aromatic Plants*, Internasional Centre for Science and High Technology, Italy.
- Harbore, J. B., (1987), *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung.
- Hargono, D., *et al*, (1986), *Sediaan Galenika*, Direktorat jendral pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Heyne, K., (1987), *Tumbuhan Berguna Indonesia (jilid III)*, Yayasan Sarana Jaya, Jakarta.
- Heyne, K., (2001), *Tumbuhan Berguna Indonesia (jilid IV)*, Yayasan Sarana Jaya, Jakarta.
- Hidayat, Syamsul dan Rodame, M. N., (2015), *Kitab Tumbuhan Obat*, Agriflo, Jakarta.
- Ismanto, S. D., Novelina dan Adek, F., (2016), Pengaruh Penambahan Daun Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* Merr) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Karakteristik *Crackers* Yang dihasilkan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Andalas.
- Jacobus, A., (2003), Pengaruh Konsumsi Bubuk Gel Daun Cincau Hijau *Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr Terhadap Kadar B-Carotene Dalam Hati Tikus Percobaan [Skripsi], Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Keinanen, M. J. and Ritta, J. T., (1996), Efek of Sample Preparation Method on Birch (*Bentula Pendula* Roth) Leaf Phenolics, *J.Agric Food Chem*, Finlandia.
- Khoiriyah, N. dan Leily, A., (2014), Formulasi Cincau Jelly Drink (*Premna oblongifolia* L Merr) Sebagai Pangan Fungsional Sumber Antioksidan, *Jurnal gizi dan Pangan*,9(2), 73–80.
- Kusharto, C. M., Tanzaha, I., J. M., (2008), Produk Ekstrak Klorofil Dari Berbagai Daun Tanaman Untuk Meningkatkan Respon Imun Dan Aplikasinya Sebagai Anti-aterosklerosis, *laporan penelitian LPPM*, IPB, Bogor.
- Mosquera, O. M., Y. M. Correa, D. C. Buitrago, and Jaime. N., (2007), Antioxidant Activity Of Twenty Five Plants From Colombian Biodiversity, *Mem, Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Colombia.
- Mardiah, Fransiska, R. Z., Lia, A. A., (2007), *Makanan Anti Kanker*, Kawan Pustaka, Jakarta Selatan.

- Molyneux, P., (2004), The use Of The Stable Free Radical Diphenilpicryl Hidrazyl (DPPH) For The Estimating Antioxidant Activity, *J.Sci Technol*, Vol 26(2).
- Nugrahenny, D., (2003), Pengaruh Seduhan Teh Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr) Terhadap Kadar Sitokrom P-420 Dan Aktivitas Glutation S-Transferase Dari Hati Tikus [skripsi], Fakultas Teknologi pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pitojo, S., (2008), *Khasiat Cincau Perdu*, Kanisius, Yogyakarta.
- Pourmorad, F., S. J. Hosseinimehr. dan N. Shahabimajid., (2006), Antioxidant Activity Phenol and Flavonoid Content of Some Selecteral Iranian Medical Plants, *Journal of Biotechnonology African*, 5(11), 1142-1145.
- Prakash, A., Rigelhof, F., dan Millers, E, (2001), Antioxidant activity, *Meddallion Laboratories Analitical Progres*, Vol 19, No 2.
- Pranoto, B. A., (2003), Aktivitas antitumor dan immunomodulator dari produk cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) dan (*Premna oblogifolia* Merr) terhadap pertumbuhan tumor kelenjar susu mencit C3H [Tesis], Program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahayu, A., (2013), *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Steroid Dari Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa)* [Skripsi], Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Ridho, E. A., (2013), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metoda DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *J.farmasi, Universitas Tanjungpura..*
- Rochima, E., (2012), Aktivitas Antikanker Bubuk Gel Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr) Melalui Jalur Apoptosis Dan Antiproliferasi Pada Mencit C3H Yang Ditransplantasi Sel Kanker Payudara [Tesis], Program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor .
- Santoso, S. S., (2017), Peran Flavonoid Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia*) Terhadap Tumor Otak, *Jurnal Fakultas Pertanian Umj*.
- Setiawati, R., (2003), Pengaruh produk daun cincau hijau *Cyclea barbata* L. Miers dan *Premna oblongifolia* Merr terhadap kapasitas antioksidan limfosit mencit C3H bertumor kelenjar susu [Skripsi], Fakultas Teknologi pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Singleton, VL., and Rossi, JA., (1965), Colorymetry Of Total Phenolic With Phospomolybdc-Phosphotungistic Acid Reagent, *Amer. J. Enol*, Viticult, 16,144-58.
- Suhartono, E., Fujiati dan Aflaine, I., (2002), Oxygen Toxicity by Radition and Effect of Glutamic Piruvat Transamine (GPT) Activity Rat Plasma After Vitamin C

- Treatmen, (Diajukan pada *International Seminar on Environmental Chemistry and Toxicology*, Yogyakarta).
- Tahir, M., Muflihunna, A. S., (2017), Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Spektrofotometri Uv-Vis, *J, Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 215–218.
- Thoss, V., Braid, MS., Lock, MA., Courty, PV., (2002), Quantifying the Phenolic Content of Freshwaters Using Simple Assays With Different Underlying Reaction Mechanism, *J Environ Monit*, 4(2), 270-275.
- Verawati, Nofiandi, D., Petmawati., (2017), Pengaruh Metoda Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total Dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium Polyanthu*(Wight) Walp .), *Jurnal katalisator*, 2(2), 53–60.
- Waterhouse, A., (1999), Folin Ciocalteu Micro Method For Total Phenol in Wine, Departemen of Vituculture and Enology University of California, Davis, 152-178.
- Watson, D. G., (2009), *Analisa Farmasi (Edisi 2)*, EGC, Jakarta.
- Widyanto, R., (2010), Pengaruh Pemberian Bubuk Daun Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* Merr) Terhadap Gambaran Histopatologis Jaringan Hati Mencit C3H Yang Ditransplantasi Sel Tumor Kelenjar Susu [Skripsi], Fakultas Teknologi pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarsi, H., (2007), *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta.
- Yu, L. (ed)., (2008), *Wheat Antioxidant*, *New Jersey* , *John Wley and Sons, (Inc)*, 120, 125-126.

Lampiran 1. Gambar Daun dan Tumbuhan Cincau Hijau Perdu



Gambar 4. Daun Cincau Hijau Perdu (*Premna oblongifolia* Merr)



Gambar 5. Tumbuhan Cincau Hijau Perdu (*Premna oblongifolia* Merr)

Lampiran 2. Hasil Identifikasi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu di Herbarium Universitas Andalas



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nes_herb@yahoo.com
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 072/K-ID/ANDA/III/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Nesa Mar'atin Imani
Di
Padang

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Nesa Mar'atin Imani
NIM : 14 04 098
Instansi : STIFI YP Padang

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Lamiaceae	<i>Premna oblongifolia</i> Merr.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

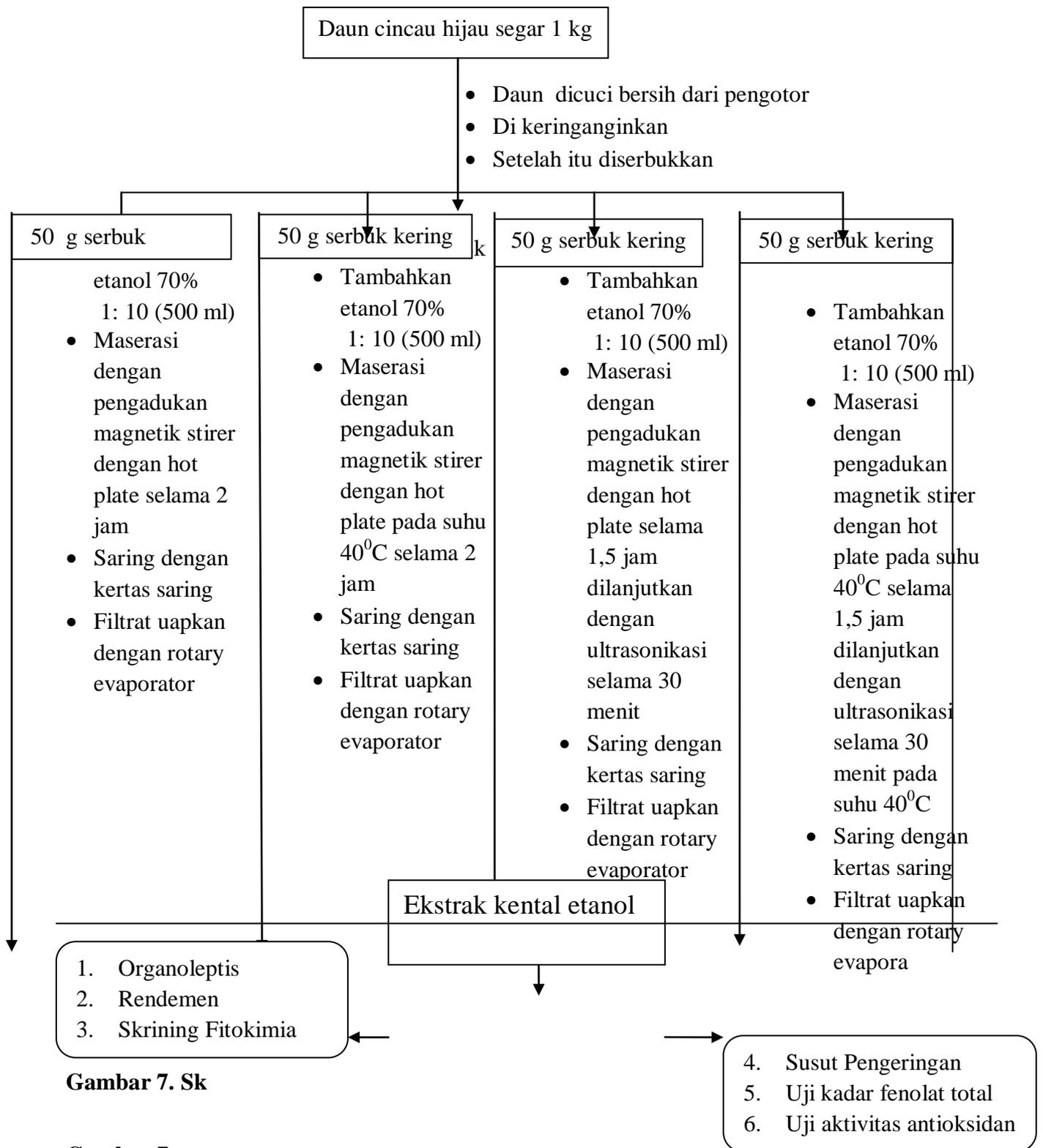
Padang, 7 Maret 2018
Kepala,

Dr. Nurainas, M.Si
NIP. 196908141995122001



Gambar 6. Hasil Identifikasi Tumbuhan Cincau Hijau Perdu di Herbarium Universitas Andalas

Lampiran 3. Skema Kerja Ekstraksi Daun Cincau Hijau Perdu



Gambar 7. Sk

Gambar 7.

Lampiran 4. Hasil Ekstraksi Daun Cincau Hijau Perdu

Tabel 1. Hasil Persentase Rendemen Ekstraksi Daun Cincau Hijau Perdu

Sampel	Berat Sampel (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Modifikasi 1	50	5,2882	10,58 %
Modifikasi 2	50	5,9968	11,99 %
Modifikasi 3	50	5,1033	10,21 %
Modifikasi 4	50	6,2443	12,49 %

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \times 100 \%$$

1. Rendemen untuk daun cincau hijau perdu dengan modifikasi I

$$\text{Rendemen} = \frac{5,2882 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% = 10,58 \%$$

2. Rendemen untuk daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II

$$\text{Rendemen} = \frac{5,9968 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% = 11,99 \%$$

3. Rendemen untuk daun cincau hijau perdu dengan modifikasi III

$$\text{Rendemen} = \frac{5,1033 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% = 10,21 \%$$

4. Rendemen untuk daun cincau hijau perdu dengan modifikasi IV

$$\text{Rendemen} = \frac{6,2443 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% = 12,49 \%$$

Lampiran 5. Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu

Tabel II. Hasil Pemeriksaan Organoleptis

Ekstrak	Bentuk	Warna	Bau
Maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm	Cairan Kental	Hijau kecoklatan	Khas
Maserasi dengan stirer selama 2 jam pada suhu 40 ⁰ C dengan kecepatan 500 rpm	Cairan Kental	Hijau kecoklatan	Khas
Maserasi dengan stirer selama 1,5 jam dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40 kHz	Cairan Kental	Hijau kecoklatan	Khas
Maserasi dengan stirer selama 1,5 jam pada suhu 40 ⁰ C dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan dengan ultrasonikasi selama 30 menit pada suhu 40 ⁰ C dengan frekuensi 40 kHz	Cairan Kental	Hijau kecoklatan	Khas

Lampiran 6. Persentase Susut Pengerinan

Tabel III. Hasil Persentase Susut Pengerinan

Sampel	Berat krus kosong setelah di oven (A)	Berat krus berisi ekstrak sebelum dioven (B)	Berat krus berisi ekstrak setelah dioven (C)	% Susut Pengerinan
Modifikasi 1	56,8076 g	57,8078 g	57,6983 g	10,95 %
Modifikasi 2	58,1589 g	59,1590 g	59,0672 g	9,18 %
Modifikasi 3	57,4690 g	58,4692 g	58,3656 g	10,36 %
Modifikasi 4	56,3802 g	57,3801 g	57,2865 g	9,36 %

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{[(B-A)-(C-A)]}{(B-A)} \times 100 \%$$

Dimana : A = Berat krus setelah oven

B = Berat krus berisi ekstrak sebelum dioven

C = Berat krus berisi ekstrak sesudah dioven

1. % Susut pengeringan untuk ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi I

% Susut pengeringan

$$= \frac{[(57,8078 \text{ g} - 56,8076 \text{ g}) - (57,6983 \text{ g} - 56,8076 \text{ g})]}{(57,8078 \text{ g} - 56,8076 \text{ g})} \times 100 \%$$

$$= \frac{[(1,0002 \text{ g}) - (0,8907 \text{ g})]}{(1,0002 \text{ g})} \times 100 \%$$

$$= \frac{10,95}{(1,0002 \text{ g})} \times 100 \%$$

$$= 10,95 \%$$

2. % Susut pengeringan untuk ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II

% Susut pengeringan

$$\begin{aligned} &= \frac{[(59,1590 \text{ g} - 58,1589 \text{ g}) - (59,0672 \text{ g} - 58,1589 \text{ g})]}{(59,1590 \text{ g} - 58,1589 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{[(1,0001 \text{ g}) - (0,9083 \text{ g})]}{(1,0001 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0918}{(1,0001 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= 9,18 \% \end{aligned}$$

3. % Susut pengeringan untuk ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi III

% Susut pengeringan

$$\begin{aligned} &= \frac{[(58,4692 \text{ g} - 57,4690 \text{ g}) - (58,3656 \text{ g} - 57,4690 \text{ g})]}{(58,4692 \text{ g} - 57,4690 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{[(1,0002 \text{ g}) - (0,8966 \text{ g})]}{(1,0002 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{0,1036}{(1,0002 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= 10,36 \% \end{aligned}$$

4. % Susut pengeringan untuk ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi IV

% Susut pengeringan

$$\begin{aligned} &= \frac{[(57,3801 \text{ g} - 56,3802 \text{ g}) - (57,2865 \text{ g} - 56,3802 \text{ g})]}{(57,3801 \text{ g} - 56,3802 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{[(0,9999 \text{ g}) - (0,9063 \text{ g})]}{(0,9999 \text{ g})} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0936}{(0,9999 \text{ g})} \times 100 \% = 9,36 \% \end{aligned}$$

Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder

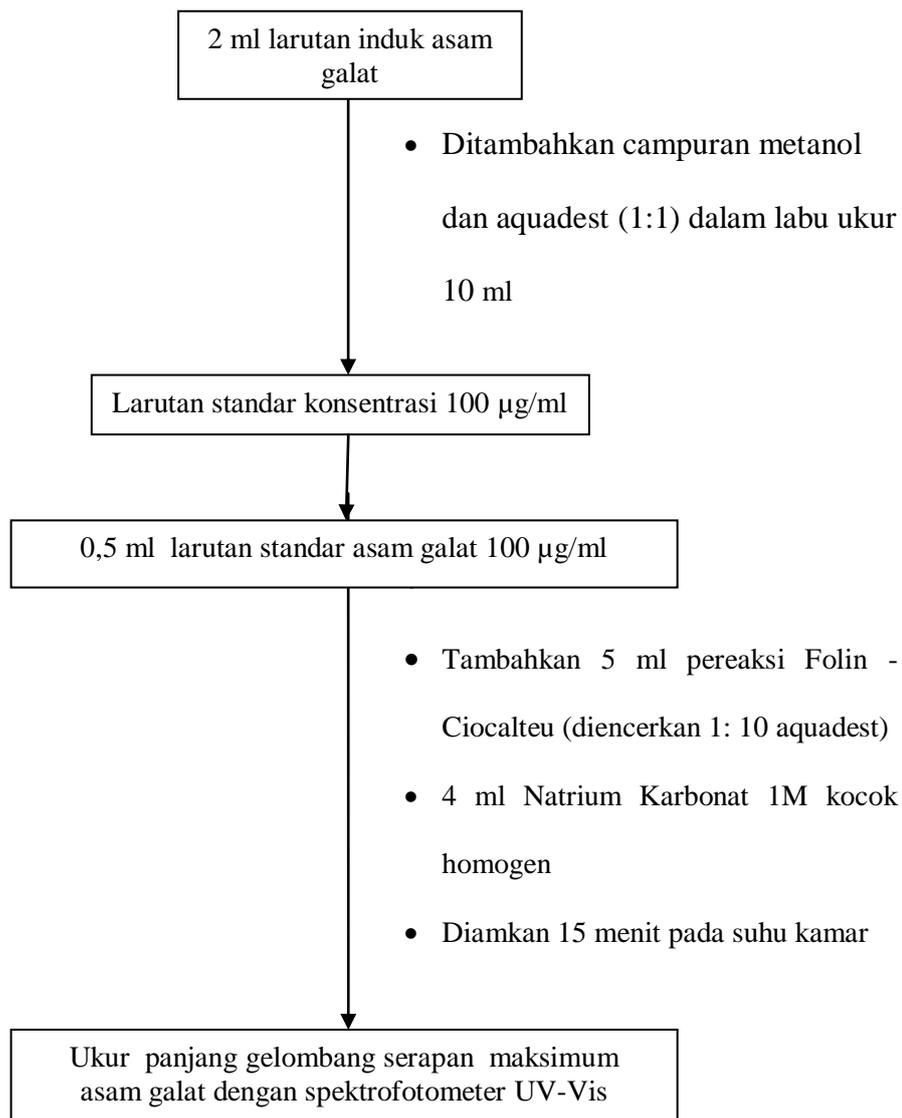
Tabel IV. Hasil Pemeriksaan Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu

No	Uji Fitokimia	Pengamatan	Hasil
1.	Alkaloid	Hanya larutan bening, tidak terbentuk kabut putih	-
2.	Flavonoid	Terbentuk warna merah keorenan	+
3.	Fenolik	Terbentuk warna hijau kecoklatan	+
4.	Saponin	Terbentuk busa tidak hilang setelah dikocok selama ± 15 menit	+
5.	Steroid	Terbentuk warna biru	+
6.	Terpenoid	Tidak terbentuk warna merah	-

Keterangan : + = bereaksi

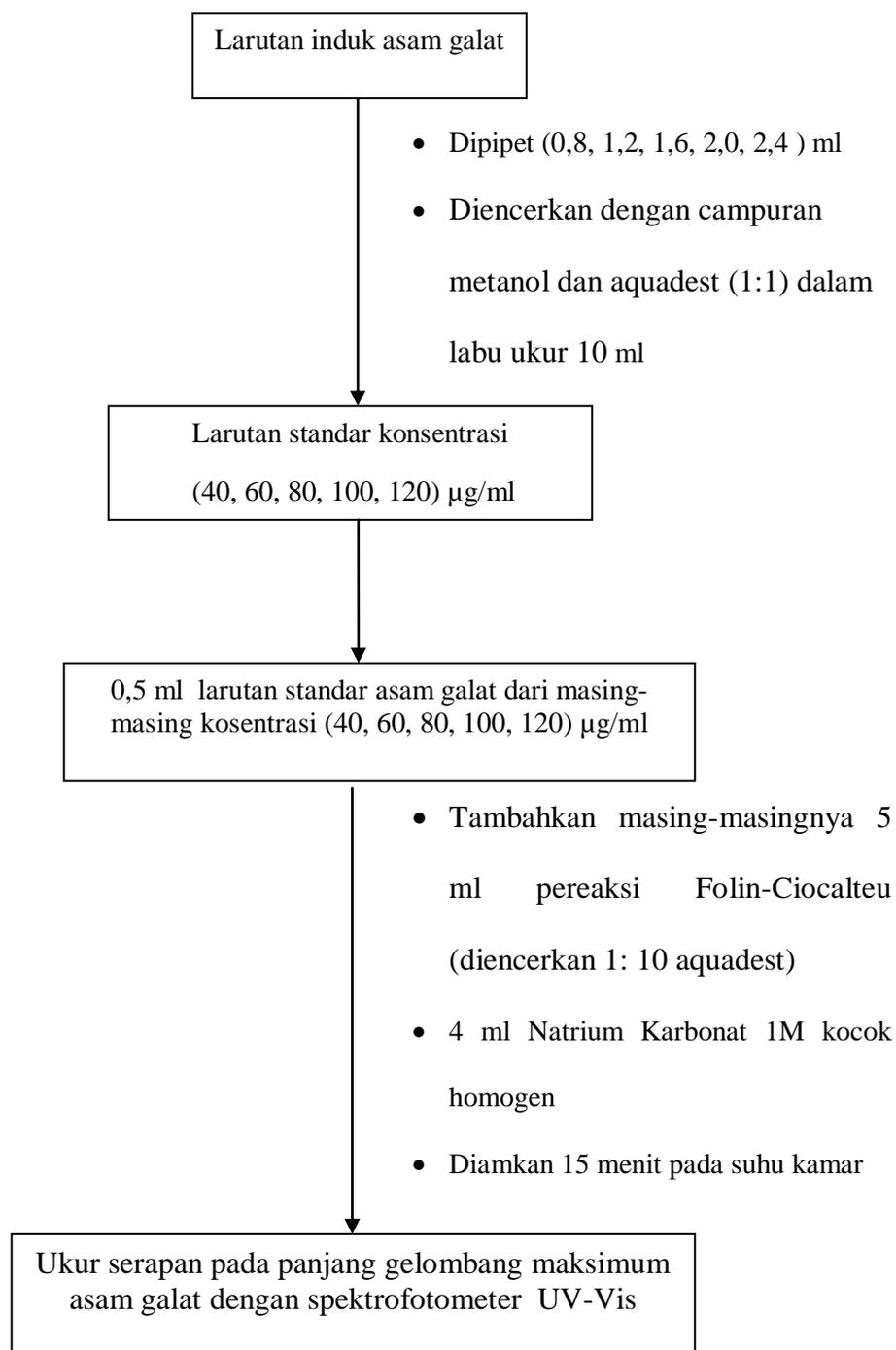
- = Tidak bereaksi

Lampiran 8. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 8. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis

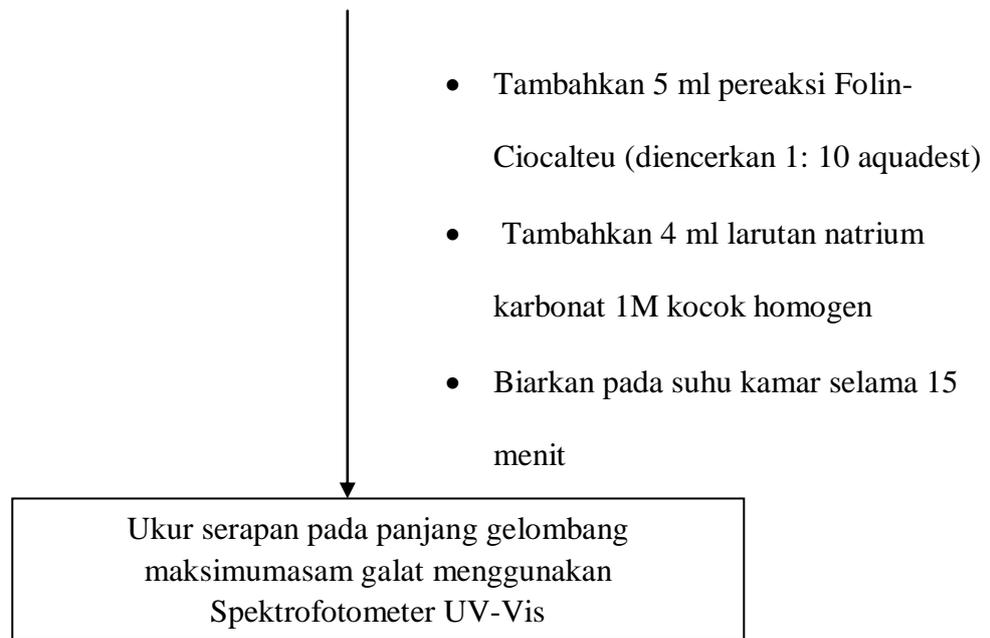
Lampiran 9. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 9. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis

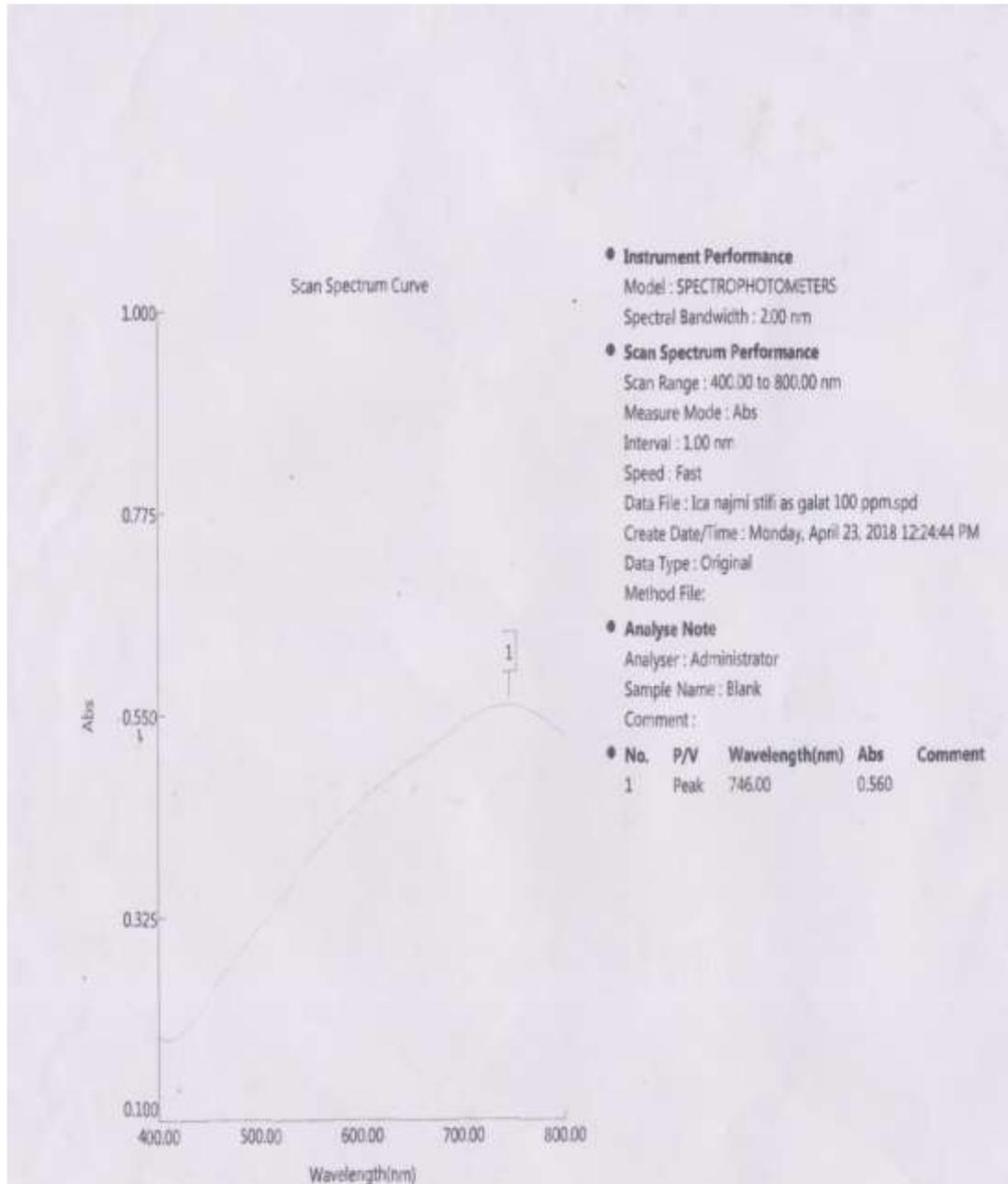
Lampiran 10. Skema Penetapan Kadar Fenolat Total dari Sampel Daun Cincau Hijau dengan Spektrofotometer UV-Vis

0,5 ml larutan induk dari masing-masing ekstrak



Gambar 10. Skema Penetapan Kadar Fenolat Total dari Sampel dengan Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 11. Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat dengan Reagen Folin-Ciocalteu menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

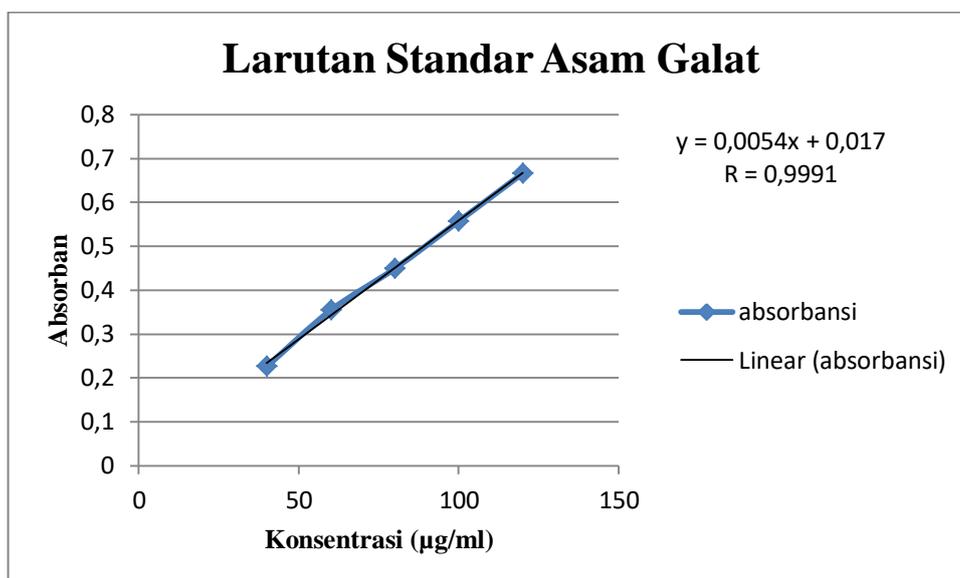


Gambar 11. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat–Folin Cicalteu

Lampiran 12. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Tabel V. Hasil Pengukuran Absorban Larutan Standar Asam Galat pada Panjang Gelombang 746 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorban
1.	40	0,226
2.	60	0,354
3.	80	0,449
4.	100	0,557
5.	120	0,666



Gambar 12. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Lampiran 13. Analisis Regresi untuk Penentuan Standar Asam Galat

Tabel VI. Hasil Perhitungan Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat pada Panjang Gelombang 746 nm

No.	X	Y	x ²	y ²	x.y
1.	40	0,226	1600	0,0511	9,04
2.	60	0,354	3600	0,1253	21,24
3.	80	0,449	6400	0,2010	35,92
4.	100	0,557	10000	0,3102	55,7
5.	120	0,666	14400	0,4436	79,92
Σ	400	2,252	36000	1,1318	201,82

Keterangan :

x = Konsentrasi (µg/ml)

y = Absorban

Persamaan regresi :

$$Y = a + bx$$

Dimana :

x = Kadar

y = Absorban

a dan b = Koefisien Regresi

Lampiran 13. (lanjutan)

a. Koefisien Korelasi (r)

$$\begin{aligned} r &= \frac{n \sum xy - (\sum x \cdot \sum y)}{\sqrt{[n \sum x^2 - (\sum x)^2] [n \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \\ &= \frac{(5 \cdot 201,82) - (400 \cdot 2,252)}{\sqrt{[(5 \cdot 36000 - (400)^2) \cdot (5 \cdot 1,1318 - (2,252)^2)]}} \\ &= \frac{1009,1 - 900,8}{\sqrt{(180000 - 160000) \cdot (5,659 - 5,0715)}} \\ &= \frac{108,3}{\sqrt{20000 \cdot 0,5875}} \\ &= \frac{108,3}{\sqrt{108,3974}} \\ &= 0,9991 \end{aligned}$$

b. Koefisien Regresi (b)

$$\begin{aligned} b &= \frac{n \sum x \cdot y - \sum x \cdot \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \\ &= \frac{(5 \cdot 201,82) - (400 \cdot 2,252)}{5 \cdot 36000 - (400)^2} \\ &= \frac{(1009,1) - (900,8)}{180000 - 160000} \\ &= \frac{108,3}{20000} \\ &= 0,00541 \end{aligned}$$

Lampiran 13. (lanjutan)

c. Konstanta (a)

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{\Sigma y - b \cdot \Sigma x}{n} \\
 &= \frac{(2,252) - (0,005415 \cdot 400)}{5} \\
 &= \frac{(2,252) - (2,166)}{5} \\
 &= \frac{0,086}{5} \\
 &= 0,0172
 \end{aligned}$$

Jadi persamaan regresi dan kurva kalibrasi adalah

$$y = a + bx$$

$$y = 0,0172 + 0,0054 x$$

Lampiran 14. Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi Asam Galat

Tabel VII. Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi Asam Galat

X	Y	Yi	(Y-Yi)	(Y-Yi) ²
40	0,226	0,2332	0,0072	0,00005184
60	0,354	0,3412	0,0128	0,00016384
80	0,449	0,4492	-0,0002	0,00000004
100	0,557	0,5572	-0,0002	0,00000004
120	0,666	0,6652	0,0008	0,00000064
				$\Sigma(Y-Yi)^2 = 0,0002164$

Keterangan : X = Deretan konsentrasi standar asam galat

Y = Absorban dari daerah larutan standar asam galat

Yi = Absorban yang ditentukan dari persamaan regresi

Persamaan regresi $y = 0,0172 + 0,0054 x$

Penentuan Yi = $0,0172 + 0,0054 (40)$

$$= 0,0172 + 0,216$$

$$= 0,2332$$

1. Simpangan Baku (SB)

$$\begin{aligned}
 SB &= \sqrt{\frac{\Sigma(y-yi)^2}{n-2}} \\
 &= \sqrt{\frac{(0,0002164)}{5-2}} \\
 &= 0,008493
 \end{aligned}$$

2. Batas Deteksi (BD)

$$BD = \frac{3 SB}{b}$$

$$= \frac{3 \times 0,008493}{0,0054}$$

$$= 4,718333 \mu\text{g/ml}$$

3. Batas Kuantisasi (BK)

$$\text{BK} = \frac{10 \text{ SB}}{b}$$

$$= \frac{10 \times 0,008493}{0,0054}$$

$$= 15,7278 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 15. Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi
Tabel VIII. Hasil Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada Panjang Gelombang 746 nm

N	Ekstrak	A	C	(C- \bar{C})	(C- \bar{C}) ²	$\bar{C} \pm \text{SD}$	Kadar
---	---------	---	---	-----------------	------------------------------	-------------------------	-------

1	Modifikasi I	0,345	60,5380	-0,3173	0,1007	60,8553 ± 0,2949	6,08%
2		0,348	61,1210	0,2657	0,0706		
3		0,347	60,9070	0,0517	0,0027		
			$\bar{C} =$ 60,8553		$\Sigma =$ 0,174		
1	Modifikasi II	0,319	56,5070	0,973	0,9467	55,5287 ± 0,9918	5,55 %
2		0,318	55,5550	0,021	0,0004		
3		0,316	54,5240	-1,01	1,0201		
			$\bar{C} =$ 55,5340		$\Sigma =$ 1,967		
1	Modifikasi III	0,338	60,0910	0,562	0,3158	59,5273 ± 0,7350	5,95 %
2		0,335	58,6920	-0,8318	0,6919		
3		0,341	59,7990	0,2699	0,0728		
			$\bar{C} =$ 59,5290		$\Sigma =$ 1,081		

Lampiran 15. (lanjutan)

1	Modifikasi IV	0,327	57,2160	0,1847	0,0341	57,0310 ± 0,6625	5,70 %
2		0,322	56,2930	-0,7383	0,5451		
3		0,329	57,5850	0,5537	0,3065		

			$\bar{C} =$ 57,0313		$\Sigma =$ 0,8857		
--	--	--	------------------------	--	----------------------	--	--

1. Kadar Fenolat Total Modifikasi I

$$\begin{aligned} \text{a. Ksf} &= \frac{\text{Konsentrasi fenolat yang terukur } (\mu\text{g/ml})}{\text{Konsentrasi ekstrak dalam larutan } (\mu\text{g/ml})} \times 100 \% \\ &= \frac{60,8533 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} \times 100 \% \\ &= 6,08 \% \end{aligned}$$

b. Standar Deviasi (SD)

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\Sigma (C - \bar{C})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,174}{3-1}} \\ &= \sqrt{0,087} \end{aligned}$$

$$= 0,2949$$

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\text{KV} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,2949}{60,8553} \times 100 \%$$

$$= 0,4846 \%$$

2. Kadar Fenolat Total Modifikasi II

$$\begin{aligned} \text{a. Ksf} &= \frac{\text{Konsentrasi fenolat yang terukur } (\mu\text{g/ml})}{\text{Konsentrasi ekstrak dalam larutan } (\mu\text{g/ml})} \times 100 \% \\ &= \frac{55,5340 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} \times 100 \% \\ &= 5,55 \% \end{aligned}$$

b. Standar Deviasi (SD)

$$\begin{aligned}SD &= \sqrt{\frac{\sum (C-c)^2}{n-1}} \\&= \sqrt{\frac{1,9672}{3-1}} \\&= \sqrt{0,9836} \\&= 0,9918\end{aligned}$$

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\begin{aligned}KV &= \frac{SD}{X} \times 100 \% \\&= \frac{0,9918}{55,5340} \times 100 \% \\&= 1,785 \%\end{aligned}$$

3. Kadar Fenolat Total Modifikasi III

a. $K_{sf} = \frac{\text{Konsentrasi fenolat yang terukur } (\mu\text{g/ml})}{\text{Konsentrasi ekstrak dalam larutan } (\mu\text{g/ml})} \times 100 \%$

$$\begin{aligned}&= \frac{59,5273 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} \times 100 \% \\&= 5,95 \%\end{aligned}$$

b. Standar Deviasi (SD)

$$\begin{aligned}SD &= \sqrt{\frac{\sum (C-c)^2}{n-1}} \\&= \sqrt{\frac{1,0805}{3-1}} \\&= \sqrt{0,54025} \\&= 0,7350\end{aligned}$$

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\begin{aligned}KV &= \frac{SD}{X} \times 100 \% \\&= \frac{0,7350}{59,5290} \times 100 \%\end{aligned}$$

$$= 1,235 \%$$

4. Kadar Fenolat Total Modifikasi IV

$$\begin{aligned} \text{a. Ksf} &= \frac{\text{Konsentrasi fenolat yang terukur } (\mu\text{g/ml})}{\text{Konsentrasi ekstrak dalam larutan } (\mu\text{g/ml})} \times 100 \% \\ &= \frac{57,0310 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} \times 100 \% \\ &= 5,70 \% \end{aligned}$$

b. Standar Deviasi (SD)

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum (C-C)^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,8857}{3-1}} \\ &= \sqrt{0,44285} \\ &= 0,6655 \end{aligned}$$

c. Koefisien Variasi (KV)

$$\begin{aligned} \text{KV} &= \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,6655}{57,0313} \times 100 \% \\ &= 1,1669 \% \end{aligned}$$

Lampiran 16. Analisis Data Menggunakan Uji ANOVA Satu Arah

Tabel IX. Uji ANOVA Satu Arah Kadar Fenolat Total Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi

Oneway

Descriptives

Kadar fenolat total

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
MM 1	3	60.855333	.2949141	.1702687	60.122726	61.587941	60.5380	61.1210
MM 2	3	55.528667	.9917622	.5725942	53.064993	57.992341	54.5240	56.5070
MM 3	3	59.527333	.7380056	.4260878	57.694026	61.360641	58.6920	60.0910
MM 4	3	57.031333	.6655016	.3842275	55.378136	58.684531	56.2930	57.5850
Total	12	58.235667	2.2571945	.6515959	56.801514	59.669820	54.5240	61.1210

Test of Homogeneity of Variances

Kadar fenolat total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.933	3	8	.468

ANOVA

Kadar fenolat total

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.928	3	17.309	33.641	.000
Within Groups	4.116	8	.515		
Total	56.044	11			

Lampiran 16. (lanjutan)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Kadar fenolat total

Duncan^a

Modifikasi maserasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
MM 2	3	55.528667		
MM 4	3		57.031333	
MM 3	3			59.527333
MM 1	3			60.855333
Sig.		1.000	1.000	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Keterangan :

MM 1 = Maserasi dengan stirer selama 2 jam dengan kecepatan 500 rpm

MM 2 = Maserasi dengan stirer selama 2 jam pada suhu 40⁰C dengan kecepatan 500 rpm

MM 3 = Maserasi dengan stirer selama 1,5 jam dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan Ultrasonikasi selama 30 menit dengan frekuensi 40kHz

MM 4 = Maserasi dengan stirer selama 1,5 jam pada suhu 40⁰C dengan kecepatan 500 rpm dilanjutkan Ultrasonikasi selama 30 menit 40⁰C dengan frekuensi 40kHz

Lampiran 17. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis

4 ml larutan induk DPPH
(35 µg/ml)

- Ditambahkan 2 ml campuran metanol dan aquadest (1:1) dalam botol vial
- Diamkan 30 menit di tempat gelap

Ukur panjang gelombang serapan maksimum pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

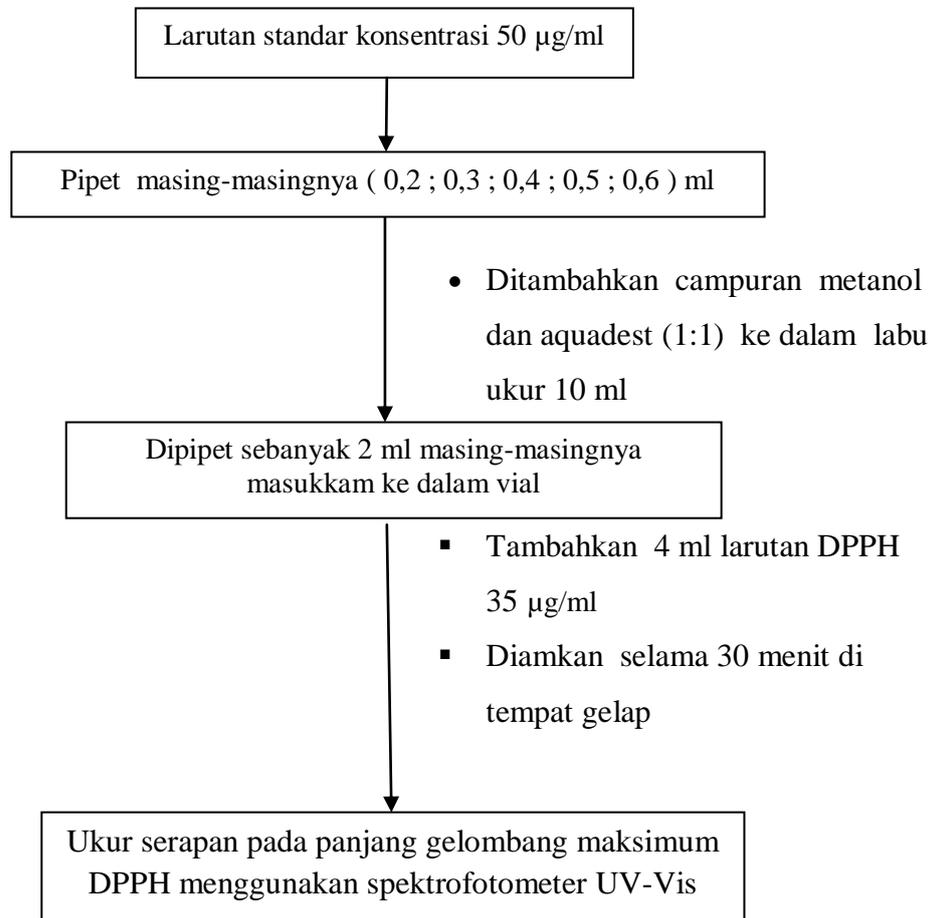
Gambar 13. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 18. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis

10 ml larutan induk asam galat

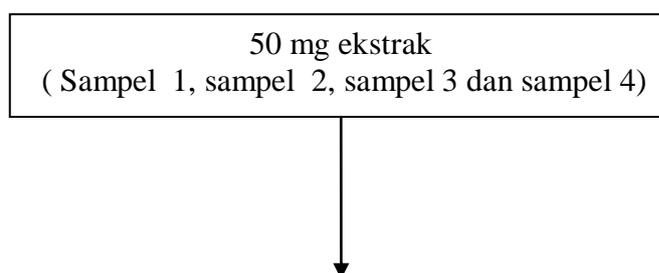


- Dilarutkan dengan campuran metanol dan aquadest (1:1) dalam labu ukur 100 ml

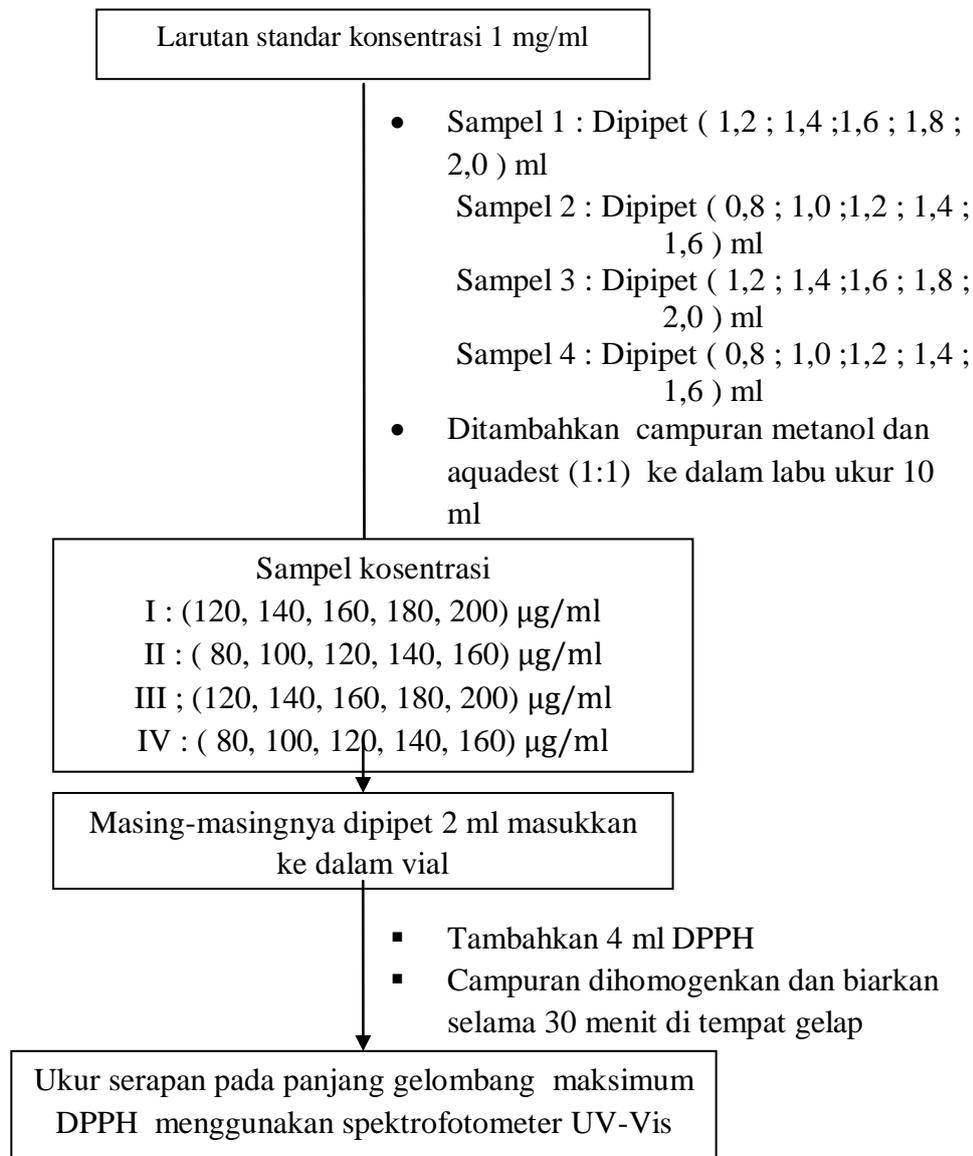


Gambar 14. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat dengan Spektrofotometer UV-Vis

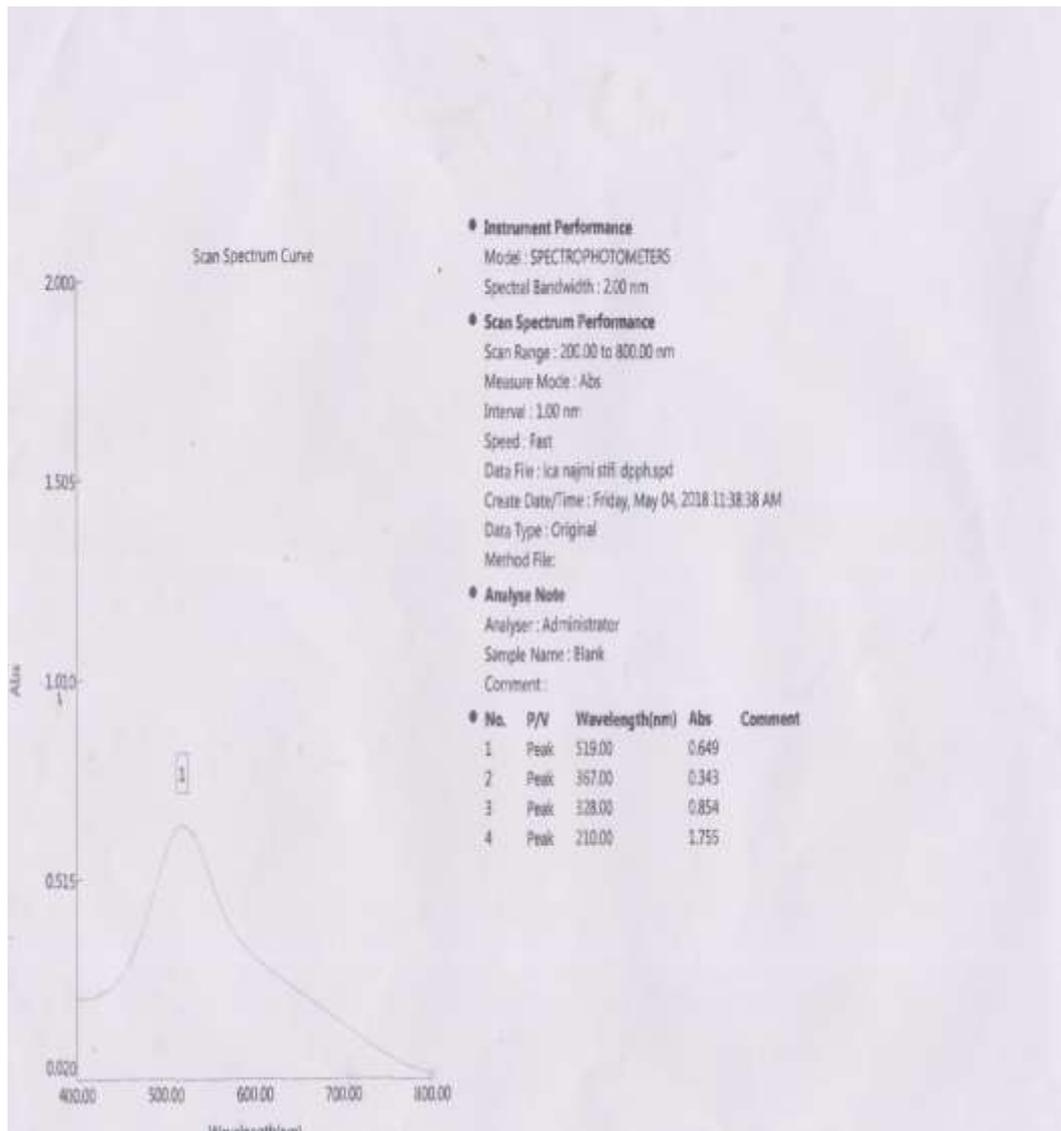
Lampiran 19. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun Cincau Hijau dengan Spektrofotometer UV-Vis



- Larutkan dengan etanol destilasi dalam labu ukur 50 ml



Gambar 15. Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak Daun Cincau Hijau dengan Spektrofotometer UV-Vis
Lampiran 20. Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 16. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Lampiran 21. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat

Tabel X. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada Panjang Gelombang 519 nm

NO	Konsentrasi (µg/ml)	Absorban Kontrol	Absorban DPPH	% inhibisi
1.	1	0,593	0,430	27,49 %
2.	1,5		0,354	40,30 %
3.	2		0,247	58,35 %
4.	2,5		0,120	79,76 %
5.	3		0,058	90,22 %

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,430}{0,593} \times 100 \% = 27,49 \%$$

2. Konsentrasi 1,5 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,354}{0,593} \times 100 \% = 40,30 \%$$

3. Konsentrasi 2 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,247}{0,593} \times 100 \% = 58,35 \%$$

4. Konsentrasi 2,5 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,120}{0,593} \times 100 \% = 79,76 \%$$

5. Konsentrasi 3 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,058}{0,593} \times 100 \% = 90,22 \%$$

Mencari nilai IC_{50} dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi

$$y = a + bx$$

$$r = 0,994$$

$$b = 32,98$$

$$a = - 6,744$$

Jadi nilai konsentrasi larutan standar asam galat yang memberikan inhibisi

sebesar 50 % adalah

$$y = -6,744 + 32,98 x$$

$$50 = -6,744 + 32,98 x$$

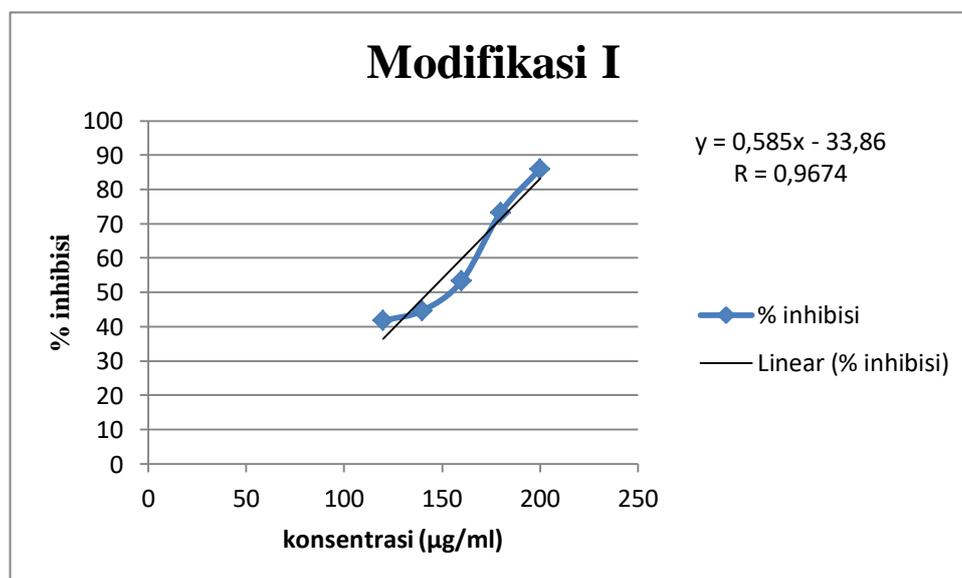
$$x = \frac{50 + 6,744}{32,98}$$

$$x = 1,7205 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 22. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi I

Tabel XI. Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari Modifikasi Metoda maserasi I.

Sampel	Kosentrasi sampel (µg/ml)	Absorban kontrol	Absorban sampel + DPPH	Absorban sampel tanpa DPPH	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Modifikasi I	120	0,649	0,405	0,027	41,75%	143,35
	140		0,393	0,030	44,66%	
	160		0,336	0,0333	53,31%	
	180		0,208	0,035	73,34%	
	200		0,155	0,064	85,98%	



Gambar 17. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Modifikasi I

y untuk sampel ekstrak daun cincau perdu dengan modifikasi I :

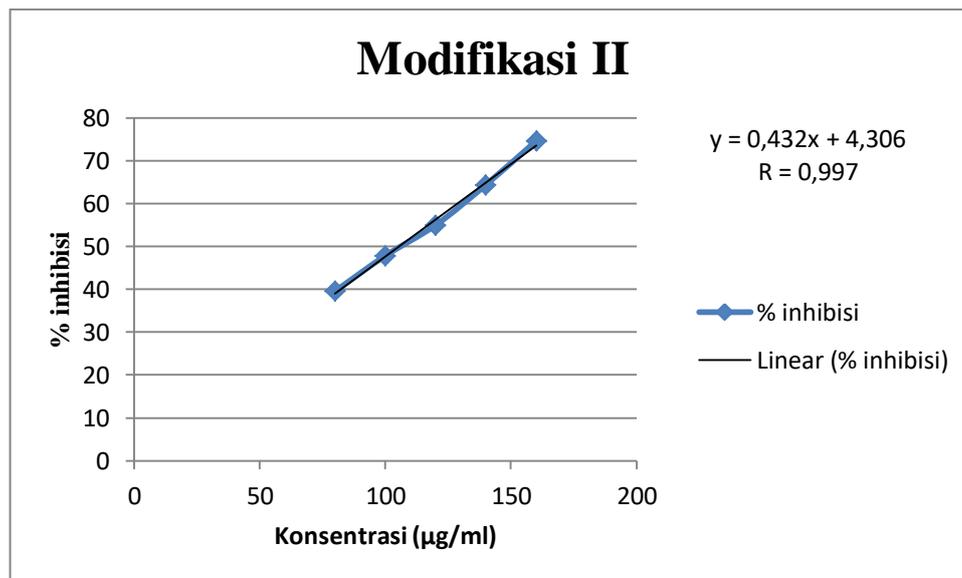
$$y = -33,86 + 0,585 x$$

$$r = 0,9674$$

Lampiran 22. (lanjutan)

Tabel XII. Hasil Penentuan IC₅₀ Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari Modifikasi Metoda Maserasi II.

Sampel	Kosentrasi sampel (µg/ml)	Absorban kontrol	Absorban sampel + DPPH	Absorban sampel tanpa DPPH	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Modifikasi II	80	0,617	0,384	0.011	39,54%	105,77
	100		0,333	0,011	47,81%	
	120		0,291	0,013	54,94%	
	140		0,236	0,016	64,34%	
	160		0,178	0,021	74,55%	



Gambar 18. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Modifikasi II

y untuk sampel ekstrak daun cincau perdu dengan modifikasi II :

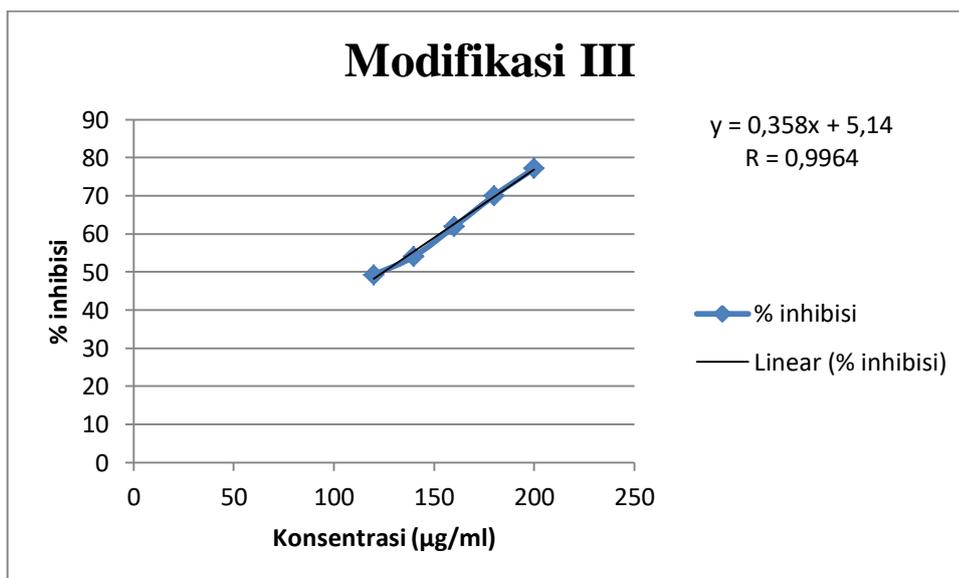
$$y = 4,306 + 0,432 x$$

$$r = 0,997$$

Lampiran 22. (lanjutan)

Tabel XIII. Hasil Penentuan IC₅₀ Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari Modifikasi Metoda Maserasi III.

Sampel	Kosentrasi sampel (µg/ml)	Absorban kontrol	Absorban sampel + DPPH	Absorban sampel tanpa DPPH	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Modifikasi III	120	0,603	0,333	0,027	49,25%	125,31
	140		0,311	0,034	54,06%	
	160		0,267	0,037	61,86%	
	180		0,224	0,043	69,98%	
	200		0,186	0,048	77,11%	



Gambar 19. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Modifikasi III

y untuk sampel ekstrak daun cincau perdu dengan modifikasi III :

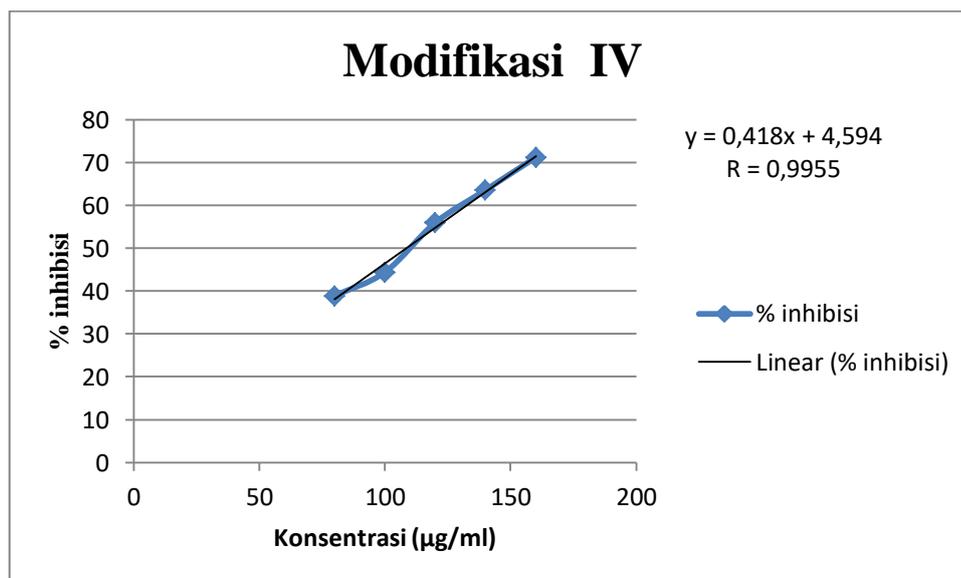
$$y = 5,14 + 0,358 x$$

$$r = 0,9964$$

Lampiran 22. (lanjutan)

Tabel XIV. Hasil Penentuan IC₅₀ Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dari Modifikasi Metoda Maserasi IV.

Sampel	Kosentrasi sampel (µg/ml)	Absorban kontrol	Absorban sampel + DPPH	Absorban sampel tanpa DPPH	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Modifikasi IV	80	0,617	0,385	0,008	38,89%	108,63
	100		0,354	0,011	44,40%	
	120		0,285	0,013	55,91%	
	140		0,241	0,016	63,53%	
	160		0,196	0,018	71,15%	



Gambar 20. Kurva Kalibrasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Modifikasi IV

y untuk sampel ekstrak daun cincau perdu dengan modifikasi IV :

$$y = 4,594 + 0,4182 x$$

$$r = 0,9955$$

Lampiran 23. Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi

Tabel XV. Hasil Kesetaraan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hijau Perdu dengan Asam galat dari masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi

NO	Sampel	Nilai IC ₅₀	Kesetaraan ekstrak dengan mg asam galat
1.	Modifikasi I	143,35 µg/ml	83,3188 mg
2.	Modifikasi II	105,77 µg/ml	61,4763 mg
3.	Modifikasi III	125,31 µg/ml	72,8335 mg
4.	Modifikasi IV	108,63 µg/ml	63,1386 mg
5.	Asam galat	1,7205 µg/ml	1 mg

Kesetaraan aktivitas antioksidan masing-masing modifikasi maserasi ekstrak daun cincau hijau perdu dengan pembanding asam galat dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Mg ekstrak daun cincau hijau perdu} = \frac{1 \text{ mg Asam Galat}}{\text{IC}_{50} \text{ Asam Galat}} \times \text{IC}_{50} \text{ ekstrak daun cincau}$$

a. mg ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi I

$$\text{mg} = \frac{1 \text{ mg}}{1,7205 \text{ µg/ml}} \times 143,35 \text{ µg/ml} = 83,3188 \text{ mg}$$

b. mg ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi II

$$\text{mg} = \frac{1 \text{ mg}}{1,7205 \text{ µg/ml}} \times 105,77 \text{ µg/ml} = 61,4763 \text{ mg}$$

c. mg ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi III

$$\text{mg} = \frac{1 \text{ mg}}{1,7205 \text{ µg/ml}} \times 125,31 \text{ µg/ml} = 72,8335 \text{ mg}$$

d. mg ekstrak daun cincau hijau perdu dengan modifikasi IV

$$\text{mg} = \frac{1 \text{ mg}}{1,7205 \text{ } \mu\text{g/ml}} \times 108,63 \text{ } \mu\text{g/ml} = 63,1386 \text{ mg}$$

Lampiran 24. Hasil Rekapitulasi Hasil Penelitian

Tabel XVI. Hasil Rekapitulasi Hasil Penelitian dari masing-masing Modifikasi Metoda Maserasi

NO	Parameter	Sampel			
		MI	MII	MIII	MIV
1.	Bobot Ekstrak	5,2882 g	5,9968 g	5,1033 g	6,2443 g
2.	% Rendemen Ekstrak	10,58%	11,99%	10,21%	12,49%
3.	Organoleptis				
	Bentuk	Cairan	Cairan	Cairan	Cairan
	Warna	kental, Hijau	kental, Hijau	kental, Hijau	kental, Hijau
		Kecoklatan,	Kecoklatan,	Kecoklatan,	Kecoklatan,
	Bau	Khas	Khas	Khas	Khas
4.	% Susut Pengerangan	10,95%	9,18%	10,36%	9,36%
5.	Reaksi dengan FeCl ₃	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau
		Kecoklatan	Kecoklatan	Kecoklatan	Kecoklatan
6.	Kadar Fenolat Total	6,08%	5,55%	5,95%	5,70%
7.	IC ₅₀ Ekstrak	143,35 µg/ml	105,77 µg/ml	125,31 µg/ml	108,63 µg/ml

Lampiran 25. Gambar Alat untuk Ekstraksi



Gambar 21. Hotplate dan Magnetik Stirrer



Gambar 22. Ultrasonikator

Lampiran 25. (lanjutan)



Gambar 23. Rotary Evaporator

Lampiran 26. Gambar Instrumen Alat Spektrofotometer UV-Vis



Gambar 24. Instrumen Alat Spektrofotometer UV-Vis

