

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN
KADAR FENOLAT TOTAL DARI EKSTRAK BUNGA
SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L.)**

SKRIPSI



Oleh :

AINI SALMI ERDI
NIM : 1904119

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) adalah tumbuhan berbentuk perdu dan banyak tumbuh di semak belukar Indonesia (Suharyanto dkk, 2019). Tumbuhan ini tegak, tinggi 0,5-4 m, banyak bercabang, bersisik, dan berambut. Senduduk memiliki daun tunggal, bertangkai, letak berhadapan silang. Helai daun bundar telur memanjang sampai lonjong, tepi rata, permukaan berambut pendek sehingga teraba kasar. Berbunga majemuk yang berwarna ungu kemerahan, buah masak akan merekah dan berwarna ungu. Buah dapat dimakan, daun muda juga dapat dimakan sebagai lalap atau disayur, perbanyak dengan biji (Pramana, 2013).

Alnajar dkk (2012) menyatakan bahwa tumbuhan senduduk ini bermanfaat untuk mempercepat penyembuhan luka, mengobati diare, mengobati kencing manis, mencegah hepatitis, obat pada bisul, mencegah keputihan, menurunkan tekanan darah tinggi, mencegah jaringan parut dari cacar dan mengobati wasir. Dari beberapa penelitian menunjukkan adanya efek antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan, efek gastroprotektif, antibakteri, antivirus dan sitotoksik.

Bagian tumbuhan senduduk yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daun, bunga, buah, batang, akar. Marsepriani dkk (2017) mengatakan bahwa daun senduduk berkhasiat sebagai obat penurun panas, penghilang rasa sakit, mengatasi diare dan cacar. Isnaini dkk (2019) membuktikan adanya aktivitas antioksidan dan antikanker pada ekstrak buah senduduk.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi, yaitu suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator

sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Reaksi oksidasi adalah reaksi yang dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi rantai sehingga menyebabkan kerusakan sel tubuh dan ketengikan (Irianti dkk, 2017). Antioksidan secara luas telah digunakan untuk melindungi tubuh dari degradasi oksidatif. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat diperoleh secara alami maupun sintetik. Antioksidan alami adalah antioksidan yang berasal dari hasil ekstraksi bahan alam pada tumbuhan yang meliputi betakaroten, likopen, asam askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E) dan zat lainnya. Sedangkan antioksidan sintetik dapat diperoleh dari reaksi kimia seperti BHA (Butylated Hydroxyl Anisole), BHT (Butylated Hydroxytoluene) dan profil galat.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Yolanda (2017) menunjukkan metabolit sekunder pada ekstrak buah senduduk mengandung fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan alkaloid yang dapat berpotensi menjadi senyawa antioksidan dan memberikan nilai positif pada uji DPPH, dengan hasil nilai IC_{50} pada ekstrak etil asetat dan metanol sebesar 8,785 $\mu\text{g/mL}$ dan 14,33 $\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat), sedangkan ekstrak heksan sebesar 57,51 $\mu\text{g/mL}$ (kuat).

Senyawa fenolik banyak diteliti sebagai senyawa yang bertanggungjawab terhadap berbagai aktivitas biologis tumbuhan, salah satunya yaitu antioksidan (Cartea dkk, 2011). Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang ditemukan tersebar di beberapa bagian tumbuhan, seperti buah, bunga, daun, akar dan batang. Senyawa yang digolongkan sebagai senyawa fenolik memiliki ciri khas yaitu terdapat satu atau lebih gugus hidroksil (OH) yang menempel pada struktur cincinnya. Senyawa dengan satu gugus hidroksil pada strukturnya disebut

senyawa fenol, sedangkan jika gugus hidroksil lebih dari satu disebut senyawa polifenol (Hoelz dkk, 2010).

Aktivitas biologis yang dimiliki senyawa fenolik sangat luas meliputi antibakteri, antiinflamasi, antitrombotik, antivirus, hepatoprotektif, antikanker, antialergi dan antioksidan (Hoelz dkk, 2010). Pemeriksaan skrining fitokimia yang telah dilakukan oleh Sari dkk (2016) menyatakan bahwa ekstrak daun senduduk positif mengandung flavonoid, tanin, saponin. Pada pengujian “Profil Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Bunga Senduduk” menggunakan metode KLT yang dilakukan oleh Noviyanty (2020) menunjukkan bunga senduduk mengandung beberapa senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat berpotensi sebagai antioksidan.

Berdasarkan penelusuran literatur tersebut belum ada yang melakukan pengujian mengenai aktivitas antioksidan bunga senduduk sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenolat total pada bunga senduduk.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, permasalahan yang dapat dirumuskan adalah :

1. Bagaimana aktivitas ekstrak etanol dari bunga senduduk sebagai antioksidan?
2. Berapa kadar fenolat total yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga senduduk?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol bunga senduduk dengan metode DPPH.
2. Menentukan kandungan kadar fenolat total dari ekstrak etanol bunga senduduk.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang biologi farmasi.
2. Mengetahui dan memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dan kadar fenolat total dari ekstrak etanol bunga senduduk.
3. Dapat memperluas dan meningkatkan pengetahuan peneliti dalam pengembangan karya ilmiah.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tumbuhan Senduduk

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Senduduk

Melastoma malabathricum L. yang biasa disebut dengan senduduk (Sumatera) atau sikaduduak (Padang) diklasifikasikan sebagai berikut (Gholib, 2015):

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Melastomataceae
Marga	: Melastoma
Jenis	: <i>Melastoma malabathricum</i> L.

2.1.2 Morfologi Tumbuhan Senduduk

Senduduk berupa perdu atau pohon kecil. Batangnya berkayu, berwarna coklat, tegak setinggi 0,5-4 m dengan percabangan yang tidak dapat dibedakan dengan batang pokoknya. Daunnya tunggal, bertangkai, letaknya berhadapan bersilang. Helai daun berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan panjang 2-20 cm dan lebar 1-8 cm, memiliki ujung dan pangkal daun runcing, bagian tepi daun rata, permukaannya berambut pendek yang jarang dan kaku sehingga teraba kasar dengan 3 tulang daun yang melengkung, dan panjang tangkai daun 5-12 mm. Buahnya dapat dimakan, sedangkan daun muda bisa dimakan sebagai lalap atau disayur. Perbungaan majemuk keluar di ujung cabang berupa malai rata dengan jumlah bunga tiap malai 4-18, mahkota 5, warnanya ungu kemerahan. Bunga

indah yang dihasilkan oleh senduduk memiliki 5 kelopak dengan kelopak pink-magenta merupakan varietas yang paling umum yang ditemukan di Malaysia dan Indonesia (Yolanda, 2017).

2.1.3 Daerah Tumbuh

Tumbuhan senduduk tersebar luas di beberapa pulau di Indonesia yaitu di Sumatra, Jawa, Irian Jaya dan Kalimantan (Gholib, 2009). Tumbuhan senduduk tumbuh liar pada tempat yang mendapatkan cukup sinar matahari, seperti di lereng gunung, semak belukar, lapangan yang tidak terlalu gersang, atau di daerah objek wisata sebagai tanaman hias dan dapat tumbuh sampai ketinggian 1.650 m di atas permukaan air laut (Dalimartha, 1999).

2.1.4 Sinonim Dan Nama Daerah Tumbuhan Senduduk

a. Sinonim

Nama lain dari senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) adalah *Melastoma affine* G. Don., *Melastoma polyanthum*., *Melastoma septemnerium* Lour (Liana, 2010).

b. Nama Daerah

Nama daerah dari tumbuhan senduduk antara lain kluruk, sengganen (Jawa), senduduk (Melayu), herendong (Sunda), kemaden (Madura) (Dalimartha, 1999). Senduduk (Sumatera) atau sikaduduak (Padang), kluruk, harendong, kemanden (Madura) (Yolanda, 2017).

2.1.5 Kegunaan Dan Kandungan Kimia Tumbuhan Senduduk

a. Kegunaan

Tumbuhan senduduk adalah salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai tumbuhan Obat. Bagian tumbuhan yang dapat digunakan adalah

daun, akar, buah, dan biji. Tumbuhan senduduk berkhasiat untuk mengatasi gangguan pencernaan (dispepsi), disentri basiler, diare, hepatitis, keputihan (leukorea), sariawan, darah haid berlebihan, pendarahan rahim diluar waktu haid, mimisan, berak darah (melen), wasir berdarah, dan tromboangitis (Gholib, 2015).

Menurut Sari dkk (2016) Khasiat dari tumbuhan senduduk dimanfaatkan masyarakat umum sebagai obat sariawan, bisul dan diare. Berdasarkan penelitian Marsepriani dkk (2017) mengatakan bahwa daun senduduk berkhasiat sebagai obat penurun panas, penghilang rasa sakit, mengatasi diare dan cacar. Bunga senduduk digunakan untuk mengobati sakit perut karena gangguan lambung, buah senduduk digunakan untuk mengobati pendarahan rahim, sedangkan batang dan akar untuk mengobati penyakit bisul, sakit gigi, obat penenang dan cacingan pada anak.

b. Kandungan Kimia

Berdasarkan pengujian skrining fitokimia yang dilakukan oleh Sari dkk (2016) didapatkan hasil daun senduduk mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Pada bunga senduduk terdapat senyawa kimia flavonoid, pada buah terdapat senyawa flavonoid dan saponin, batang dan akar terdapat steroid dan terpenoid. Pada pengujian “Profil Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Bunga Senduduk” menggunakan metode KLT yang dilakukan oleh Noviyanty (2020) menunjukkan bunga senduduk mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, dan saponin.

2.1.6 Tinjauan Farmakologi Dan Farmasetik

a. Farmakologi

Penelitian yang dilakukan oleh Joffry dkk (2012) mengungkapkan senduduk dapat digunakan secara farmakologi, seperti antiseptik, antiinflamasi, antitoksik dan antioksidan. Tumbuhan ini mempunyai khasiat sebagai pereda demam (antipiretik), penghilang nyeri (analgesik), peluruh urin (diuretik), mengobati keputihan (leukorea).

b. Farmasetika

Sudah ada beberapa peneliti yang melakukan percobaan untuk membuat sediaan menggunakan tumbuhan senduduk seperti mengembangkan formulasi gel untuk luka dari ekstrak daun senduduk, formulasi krim ekstrak daun senduduk sebagai anti-aging, formulasi lipstik dari ekstrak buah senduduk, masker dari buah senduduk dan formulasi pewarna rambut dari ekstrak buah senduduk.

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif yang terdapat dalam suatu bahan alam menggunakan pelarut dengan metode yang sesuai, sehingga diperoleh ekstrak (Dirjen POM, 2000). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah menarik komponen kimia yang terdapat didalamnya. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen ke dalam pelarut yang dipengaruhi oleh kelarutan komponen didalam pelarut. Proses perpindahan massa komponen dimulai dari lapisan antar muka kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Emilan dkk, 2011).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Dirjen POM, 2000).

2.2.2 Metode Ekstraksi

a. Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Dirjen POM, 2000).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Dirjen POM, 2000).

b. Cara Panas

1. Refluks

Refluk adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000).

2. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000).

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruang (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Dirjen POM, 2000).

4. Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Dirjen POM, 2000).

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Dirjen POM, 2000).

2.3 Antioksidan

2.3.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menjadi substansi untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas (Putra, 2013). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007). Reaksi oksidasi adalah suatu reaksi kimia yang mengalami penurunan elektron sehingga menghasilkan radikal bebas yang memicu reaksi berantai dan menyebabkan kerusakan sel tubuh. Pada prinsipnya, antioksidan berperan untuk menghentikan reaksi berantai senyawa radikal melalui mekanisme penangkapan radikal bebas dengan memberikan satu elektron untuk berpasangan dengan elektron bebas dari senyawa radikal sehingga menjadi non-radikal (Rohmatussolihat, 2009).

2.3.2 Jenis-Jenis Antioksidan

a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami bisa didapatkan dari tanaman, seperti pada sayuran, buah-buahan segar, dan rempah-rempah. Fungsi dari antioksidan alami diantaranya sebagai reduktor, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, dan peredam pembentukan oksigen singlet. Antioksidan alami diklasifikasikan menjadi vitamin dan enzim. Antioksidan berupa vitamin diantaranya adalah betakaroten (vitamin A), alfa tokoferol (vitamin E), dan asam askorbat (vitamin C). Sedangkan antioksidan berupa enzim

yang dihasilkan oleh tubuh dapat berupa superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase. Sedangkan antioksidan dari tanaman yaitu senyawa polifenol atau fenolik, turunan asam sinamat, flavonoid, kumarin, asam organik dan tokoferol (Irianti dkk, 2017). Antioksidan alami seperti tokoferol, asam askorbat, dan flavonoid telah banyak diteliti baik pada bidang kedokteran dan farmakologi karena aktivitasnya sebagai antitumor, antimutagenik, antikanker, serta penyakit lainnya.

b. Antioksidan Sintetik

Senyawa ini merupakan hasil sintesa di dalam laboratorium dari beberapa reaksi kimia, adapun contoh dari senyawa yang bersifat antioksidan yang diperbolehkan beredar dan diizinkan penggunaannya baik dalam makanan ataupun obat-obatan adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, ter-butil hidroksi quinon (TBHQ) dan juga tokoferol. Namun menggunakan antioksidan BHA dan BTH dalam jangka panjang, maka dapat memberikan efek toksik terhadap tubuh, yaitu penurunan berat badan dan pembengkakan berat pada organ hati dan otak. Senyawa antioksidan sintetik ini juga terdapat dalam bahan-bahan alam, namun karena ditunjukan untuk produksi secara massal dan juga komersial maka dilakukan proses sintesa secara laboratorium untuk menghasilkan senyawa antioksidan tersebut (Samiaty, 2012).

2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, dan radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutasi (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase yang menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutuskan reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk lebih stabil.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatis disebut sistem pertahanan preventif. Sistem pertahanan antioksidan ini adalah terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkhelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Antioksidan sekunder dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya. Antioksidan non-enzimatis meliputi tokoferol, flavonoid, asam askorbat, dan protein pengikat logam.

c. Antioksidan Tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh

rusaknya *single* dan *double strand*, baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007).

2.3.4 Metoda Uji Aktivitas Antioksidan

a. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin)

Senyawa antioksidan dapat diketahui keberadaannya melalui uji aktivitas antioksidan, Salah satu metode yang umum digunakan adalah DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin). DPPH adalah radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Senyawa DPPH berwarna ungu karena adanya delokalisasi elektron pada atom nitrogen setelah direaksikan dengan senyawa antioksidan menjadi difenilpikrilhidrazin yang berwarna kuning, hal ini mengakibatkan ikatan rangkap terkonjugasi menjadi lebih panjang sehingga panjang gelombang DPPH bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang dengan absorbansi yang kuat pada panjang gelombang maksimum. DPPH yang berwarna ungu akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan. Rentang panjang gelombang DPPH berkisaran antara 515-520 nm. Prinsip metode DPPH berdasarkan pada pengurangan DPPH dengan adanya donor hidrogen dari antioksidan sehingga terbentuk difenilpikrilhidrazin. Kelebihan dari metode ini yaitu sederhana, cepat, sensitive dan hanya membutuhkan sedikit sampel dalam proses analisis. Kekurangan dari metode ini yaitu penanganan senyawa DPPH harus dilakukan dengan hati-hati, karena dapat didegradasi oleh cahaya, oksigen, dan pH (Regita, 2021).

b. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metoda *Reducing Power* merupakan metode yang digunakan untuk mengukur kekuatan reduksi suatu sampel. Metode uji FRAP memiliki prinsip dengan mengukur kemampuan dari senyawa antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Jadi, senyawa yang memiliki potesi reduksi atau sebagai antioksidan akan bereaksi dengan kalium ferrisianida dan membentuk kalium ferrosianida, kemudian akan bereaksi dengan besi klorida dan membentuk kompleks ferri-ferro yang memiliki daya absorbansi pada panjang gelombang maksimum 700 nm (Halvorsen dkk, 2002).

c. ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonate)

Prinsip uji ABTS adalah dengan penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan radikal kation ABTS. ABTS mempunyai karakteristik warna biru-hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi tidak berwarna. ABTS adalah reagen yang dapat tetap stabil selama tiga hari dalam ruang gelap di suhu 25°C. ABTS sering digunakan oleh industri makanan untuk mengukur antioksidan makanan (Shalaby dkk, 2013).

d. ORAC (*Oxygen Radical Absorbing Capacity*)

Metode ini mengukur aktivitas antioksidan bereaksi dengan radikal peroksil yang dihasilkan melalui larutan cair 2,2'-azobis-(2-amidino-propana) dihidroklorida (AA H), pada suhu 3°C. Pengujian dilakukan dengan menggunakan Trolox (analog vitamin E yang larut dalam air)

sebagai standar untuk menentukan Trolox Equivalent (TE). Nilai ORAC kemudian dihitung dari Equivalent Trolox (Alam dkk, 2013).

e. CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Antioksidan standar atau ekstrak dicampur dengan CuSO_4 dan neocuproine. Setelah 30 menit, absorbansi diukur pada 450 nm. Dalam pengujiannya, Cu(II) berubah menjadi Cu(I) melalui donor elektron antioksidan. Cu(II) dapat bertindak sebagai katalisator dengan adanya antioksidan yang berlebihan, dan antioksidan dapat bertindak sebagai pro-oksidan. Dengan demikian, Cu(II) dapat dikatakan sebagai inisiator (zat yang dapat mengawali suatu reaksi radikal bebas) untuk menguji kapasitas pemecahan rantai radikal antioksidan (Shalaby dkk, 2013). Kelebihan metode ini mudah, memberikan hasil lebih spesifik. Kekurangan pada metode CUPRAC yaitu Instrumen canggih yang dibutuhkan biaya yang mahal (Badarinath dkk, 2010).

2.4 Radikal Bebas

Menurut Winarsi (2007) Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Apabila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan molekul lain, akan terbentuk radikal baru lagi, dan seterusnya sehingga akan terjadi reaksi berantai (*chain reactions*), jika berlangsung terus menerus akan menyebabkan kerusakan sel dan menimbulkan

berbagai gangguan kesehatan seperti kanker, jantung, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Akan tetapi dalam jumlah tertentu radikal bebas dibutuhkan untuk kesehatan yang berfungsi pada saat adanya inflamasi, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos dalam organ maupun pembuluh darah.

Radikal dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal dalam tubuh. Sementara radikal eksogen berasal dari bahan pencernaan yang masuk kedalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit (Day dkk, 2002). Sumber pembentukan radikal bebas dapat berupa Asap kendaraan bermotor, asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari terlalu lama, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara.

2.5 Fenolat total

2.5.1 Definisi Fenolat Total

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang ditemukan tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti buah, daun, dan batang. Senyawa fenolik memiliki ciri khas yaitu terdapat satu atau lebih gugus hidroksil (OH) yang menempel pada struktur cincinnya. Senyawa dengan satu gugus hidroksil pada strukturnya disebut senyawa fenol, sedangkan jika gugus hidroksil lebih dari satu disebut senyawa polifenol (Hoelz dkk, 2010).

Fenolat merupakan golongan metabolit sekunder yang distribusinya cukup luas pada tanaman. Golongan fenolat memiliki berbagai aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Kandungan fenolat dalam tumbuhan berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai oksidan dan radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan (Verawati dkk, 2017).

Senyawa fenolik bersifat essential untuk pertumbuhan dan reproduksi tanaman, serta diproduksi sebagai respon pertahanan terhadap patogen dan kondisi stress pada tanaman. Senyawa fenolik merupakan pemberi warna, rasa, dan aroma yang spesifik pada bagian tanaman tertentu, seperti antosianin sebagai pigmen warna merah dan ungu pada anggur, eugenol sebagai pemberi aroma pada pisang, dan flavonon yang menyebabkan rasa pahit. Karakteristik kelompok senyawa ini dikenal tidak stabil dan mudah teroksidasi terutama dalam kondisi basa, kelarutannya secara umum dalam pelarut organik polar, sedangkan bentuk glikosidanya larut dalam air (Pangestuty, 2016). Memeriksa kandungan fenol total dari sampel uji dapat diukur dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu.

2.5.2 Metode Penentuan Fenolat Total

a. Folin-Ciocalteu

Metode folin-Ciocalteu merupakan metode yang sederhana, sensitif dan teliti. Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat, dan bromin. Prinsip dasar untuk metode ini adalah oksidasi gugus fenolik-hidroksil. Pereaksi Folin-Ciocalteu mengoksidasi fenolat serta mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molybdeum-tungsten. Selama reaksi berlangsung, gugus fenolikhidroksil akan bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru (Jasson, 2005). Warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan semakin

pekat setara dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat pada larutan uji (Blainski dkk, 2013).

b. Folin Denis

Folin Denis merupakan reagen yang berisi fototungstat dan molibdat yang pada awalnya digunakan untuk identifikasi tannin dan berwarna biru apabila bereaksi dengan tannin. Pembentukan reaksi tersebut berdasarkan reaksi oksidasi reduksi, dimana tannin sebagai reduktor dan Folin Denis sebagai oksidator.

c. Titrasi Permanganat

Permanganometri adalah titrasi yang berdasarkan pada reaksi redoks. Metode ini didasari oksidasi fenolat oleh larutan kalium permanganat dengan adanya indigokarmin sebagai indikator redoks untuk menunjukan indikator titrasi.

d. Kolorimetri

Metode kolorimetri digunakan untuk penentuan fenolat total campuran hidrokarbon, pelarut organik, dan larutan berair. Metode ini tidak terpengaruh oleh bahan organik yang mengandung gugus fungsi lain (seperti aldehida atau eter) atau dengan air, asam mineral, basa organik, atau anorganik garam. Sampel dilarutkan dalam asam asetat kemudian ditambahkan larutan asam nitrat, terbentuk nitrosofenol. Setelah itu, intensitas garam kuinon berwarna yang dihasilkan diukur dengan kolorimeter fotolistrik.

2.6 Spektrofotometer UV-Vis

2.6.1 Defenisi Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan pengukuran absorsi energi cahaya oleh suatu molekul pada suatu panjang gelombang tertentu untuk tujuan analisis kualitatif dan kuantitatif. Bila suatu molekul dikenakan radiasi elektromagnetik berupa sinar ultraviolet atau sinar tampak (*visible*), maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik menghasilkan energi eksitasi atau dikenal sebagai absorbansi, yaitu perubahan energi potensial elektron dari keadaan dasar menjadi keadaan tereksitasi. Dalam hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa absorbansi (A) berbanding lurus dengan tebal kuvet (b) dan kosentrasi analit dalam larutan (c) berbanding terbalik dengan transmittan (T). Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur energi secara relatif bila energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Day dkk, 2002).

$$A = abc = \log$$

2.6.2 Bagian-Bagian Spektrofotometer UV-Vis

Fungsi masing masing bagian:

a. Sumber Energi

Untuk mendapatkan pengukuran absorbansi yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup kontinu dan merata pada panjang gelombang yang dikehendakinya dan stabil selama waktu yang diperlukan (Watson, 1999). Sumber cahaya mempunyai

fungsi untuk memberikan energi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas cahaya yang tetap selama pengukuran (Day dkk, 2002).

b. Monokromator

Sumber cahaya yang bisa digunakan memancarkan sinar kontinu mempunyai panjang gelombang yang bersifat polikromatis. Oleh karena itu digunakan monokromator yang bertindak sebagai peguraian sinar polikromatis menjadi monokromatis (Watson, 1999).

c. Kuvet

Kuvet adalah tempat disimpannya larutan contoh yang akan diukur serapannya yang diletakkan pada jalan cahaya dari monokromator. Pada saat cahaya monokromatis melalui kuvet terjadi penyerapan sejumlah cahaya tertentu, sedangkan sebagian lainnya diteruskan ke detektor (Day dkk, 2002). Kuvet dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk (Watson, 1999).

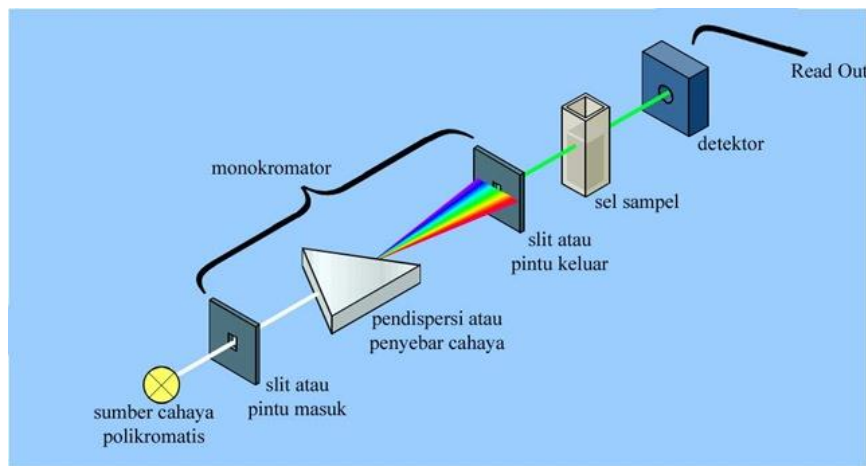
d. Detektor

Detektor dapat mengubah energi sinar menjadi energi listrik dengan menyerap energi sinar yang jatuh diubah dengan menjadi besaran yang dapat diukur (Watson, 1999).

e. Rekorder

Rekorder merupakan alat untuk membaca isyarat dari detektor untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri. Pengaruh berkurangnya intensitas sinar disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat

dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang sama disebut blanko (Watson, 1999). Sinyal listrik yang dihasilkan pada detektor dapat dibaca pada recorder dengan mengkonversikannya ke dalam besaran absorban atau % T (Day dkk, 2002).



Gambar 1. Konfigurasi Dasar Dari Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 1999)

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 6 bulan dimulai dari bulan Juli hingga Desember 2022 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang, Kota Padang, Sumatera Barat.

3.2 Alat Dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, seperangkat alat *rotary evaporator* (Bochi Heating Bath B-490), Spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik (Kern ABJ-NM/ABS-N), botol maserasi atau bejana bewarna gelap, plat tetes, krus poselen, furnes (*Carbaute*), labu ukur, tabung reaksi, gelas ukur, beaker glass, vial, oven (*Memmert*), timbangan digital, kuvet, pipet takar, corong, batang pengaduk, kertas saring, desikator, tang krus, aluminium foil, spatel, pipet tetes, cawan penguap, kertas perkamen, botol semprot.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.), aquadest, DPPH, etanol 70%, etanol 96%, metanol p.a (Merk), kloroform, FeCl_3 , logam Mg, HCl pekat, norit, kloroform amoniak, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 2N, pereaksi mayer, asam galat (Sigma), asam sulfat, reagen Folin-Ciocalteu, natrium karbonat 1M.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah bunga dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) yang diambil dari Kecamatan Kinali, Kabupaten Pasaman Barat, Sumatera Barat. Sampel yang diambil adalah bunga segar (basah) sebanyak 3 kg.

3.3.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi dilakukan dengan mengambil semua bagian dari tumbuhan untuk memastikan jenis tumbuhan yang digunakan dalam penelitian. Tumbuhan senduduk diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Padang, Sumatera Barat.

3.3.3 Penyiapan Sampel Uji

Bunga senduduk sebanyak 3 kg, dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotornya dan kemudian dirajang untuk memperkecil ukuran sampel sehingga mempermudah proses pengeringan. Lalu dikering-anginkan selama 5 hari tanpa mengenai cahaya matahari secara langsung, kemudian dihaluskan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk simplisia kering.

3.3.4 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia kering dari bunga senduduk dimasukkan ke dalam botol maserasi atau bejana bewarna gelap dengan pelarut etanol 70% sampai sampel terendam, kemudian dibiarkan selama 3 hari, setiap hari di 6 jam pertama sesekali diaduk dan 18 jam kemudian dibiarkan, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kertas saring (yang dilapisi kapas) untuk mendapatkan maserat. Selanjutnya sisa ampas dimaserasi lagi dengan etanol 96% lakukan dengan cara

yang sama hingga 2 kali pengulangan sehingga didapatkan maserat bening, kemudian digabungkan semua maserat lalu diuapkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental (Dirjen POM, 2000).

3.4 Karakterisasi Ekstrak

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara pengamatan melalui panca indera meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik ekstrak sampel yang akan diuji (Dirjen POM, 2000).

3.4.2 Rendemen

Rendemen merupakan salah satu nilai penting dalam pembuatan produk. Rendemen adalah Perbandingan antara hasil ekstraksi yang diperoleh dengan simplisia awal bunga senduduk. Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental(g)}}{\text{serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.4.3 Susut Pengeringan

Susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan minimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Dirjen Farmalkes, 2017). Krus porselen dimasukkan kedalam oven selama 30 menit pada suhu 105°C, didinginkan kemudian ditimbang krus (A), lalu dimasukkan masing-masing ekstrak ke dalam krus seberat 1-2 gram digoyang krus perlahan supaya ekstrak merata dan ditimbang krus yang sudah ditambahkan sampel (B), kemudian dimasukkan krus yang sudah ditambahkan sampel kedalam oven, dibiarkan selama 1 jam ketika suhu oven mencapai 105°C. Setelah itu dikeluarkan

dari dalam oven dan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Lakukan hal seperti di atas sampai diperoleh berat yang konstan (C).

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

Keterangan :

A = berat krus kosong setelah di oven (g)

B = berat krus + ekstrak sebelum di oven (g)

C = berat krus + ekstrak sesudah di oven (g)

3.4.4 Kadar Abu

Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Dirjen Farmalkes, 2017). Ekstrak bunga senduduk ditimbang sebanyak 2-3 gram, lalu dimasukkan ke dalam krus poselen yang telah dipijar dan ditimbang. Kemudian dipijar dengan nyala api kecil sampai zat mengarang semua. Dimasukkan ke dalam furnace pada suhu 600°C selama 8 jam, hingga arang habis dan ditandai dengan warna abu-abu (Dirjen POM, 2000). Setelah itu didinginkan di dalam desikator kemudian ditimbang berat abu yang diperoleh menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat krus kosong

B = berat krus + sampel sebelum pemijaran

C = berat krus + sampel setelah pemijaran

3.4.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Bunga Tanaman Senduduk

Ditimbang masing-masing ekstrak bunga senduduk sebanyak 0,5 gram, ditambahkan kloroform : aquadest (1:1) 10 mL masing-masing dikocok dalam tabung reaksi biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform.

1. Uji Fenolat

Diambil 2 tetes lapisan air dan diletakkan pada plat tetes, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru menunjukkan adanya senyawa fenolat.

2. Uji Flavanoid

Diambil 2 tetes lapisan air diletakkan pada plat tetes, kemudian ditambahkan logam Mg dan 2 tetes HCl pekat. Timbulnya warna orange kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3. Uji Saponin

Diambil lapisan air dan dikocok kuat dalam tabung reaksi hingga terbentuk busa yang tidak hilang selama ± 15 menit, ini menunjukkan adanya saponin.

4. Uji Terpenoid & Steroid

Lapisan kloroform diambil 2 tetes lalu disaring dengan norit aktif. Hasil saringan diteteskan pada plat tetes. Dibiarkan kering lalu ditambahkan asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 2 N, warna merah-ungu menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa steroid.

5. Uji Alkaloid

Diambil 1 mL lapisan kloroform ditambahkan 1 mL kloroform amoniak 0,05 N dan 1 mL asam sulfat 2 N, kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan memisah. Lapisan asam dipipet dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

3.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 35 µg/mL

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) sebanyak 10 mg ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan DPPH 100 µg/ mL. Kemudian diambil 17,5 mL larutan DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan konsentrasi 35µg/mL (Molyneux, 2004).

3.5.2 Penetapan Panjang Gelombang (λ) Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH 35 µg/mL dipipet sebanyak 4 mL, lalu dimasukan ke dalam vial gelap dan ditambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sebanyak 2 mL, kemudian tutup vial lalu dibiarkan selama 30 menit ditempat yang gelap, selanjutnya diukur serapannya pada range 400-800 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Mosquera dkk, 2007).

3.5.3 Penyiapan Larutan Induk Asam Galat 500 µg/ml

Asam galat diambil sebanyak 12,5 mg lalu dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan 0,5 mL metanol, kemudian ditambahkan dengan aquadest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 500 µg/mL (Waterhouse, 1999).

3.5.4 Penetapan Aktivitas Antioksidan Pembanding Asam Galat

Larutan pembanding asam galat dibuat dengan dipipet larutan induk asam galat 500 µg/mL sebanyak 10 mL, kemudian dilarutkan dalam campuran metanol dan aquadest (1:1) dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan asam galat dengan konsentrasi 50 µg/mL. Dari larutan ini masing-masing dipipet (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0) mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL.

Dipipet masing-masing larutan sebanyak 2 mL lalu dimasukkan ke dalam vial gelap, ditambahkan larutan DPPH 35 µg/mL sebanyak 4 mL. didiamkan selama 30 menit ditempat gelap sampai terbentuk warna kuning (terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning). Lalu absorban larutan diukur pada panjang gelombang 518 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Pourmorad dkk, 2006).

3.5.5 Pembuatan Larutan Sampel Dan Penetapan Aktivitas Antioksidan Sampel Dari Bunga Senduduk

Ekstrak etanol bunga senduduk ditimbang sebanyak 25 mg dilarutkan dengan 0,5 mL metanol, kemudian ditambahkan metanol dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak 500 µg/mL. Dari

larutan sampel dipipet (0,2: 0,3: 0,4: 0,5: 0,6) mL, kemudian ditambahkan metanol:aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL dan 30 µg/mL. Dipipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 mL larutan sampel dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam vial gelap, kemudian ditambahkan 4 mL DPPH 35 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Lalu absorban larutan diukur pada panjang gelombang 518 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Mosquera dkk, 2007).

3.6 Pengujian Penetapan Kadar Fenolat Total Menggunakan Metode Folin-Ciocalteu

3.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat-Folin Ciocalteu

Larutan induk asam galat (500 µg/mL) dipipet sebanyak 0,6 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu diencerkan dengan metanol : aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi asam galat 30 µg/mL. Kemudian dipipet 0,5 mL larutan menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam vial dan dicampurkan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu sebanyak 5 mL (diencerkan 1:10) dengan aquadest, kemudian ditambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M dikocok sampai homogen. Dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan diukur panjang gelombang serapan maksimum asam galat dengan spektrofotometer UV-Vis (Poumorad dkk, 2006).

3.6.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat (Mosquera dkk, 2007)

Larutan induk asam galat (500 µg/mL) dipipet sebanyak (0,8: 1,0: 1,2: 1,4: 1,6) mL, lalu diencerkan dengan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas, hingga diperoleh konsentrasi 40 µg/mL, 50 µg/mL, 60 µg/mL, 70 µg/mL, 80 µg/mL. Dari masing-masing larutan dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian dicampurkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10) dengan aquadest, ditambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M dan dibiarkan selama 15 menit, lalu diukur serapan pada panjang gelombang 762 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.6.3 Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)

Setelah didapatkan kurva kalibrasi asam galat kemudian dihitung nilai batas deteksi dan batas kuantisasi. Perhitungan BD dan BK dilakukan secara statistik melalui persamaan regresi linier dengan konsentrasi, dimana respon instrument berhubungan linier dengan konsentrasi. Berikut adalah rumus mencari BD dan BK, yaitu :

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

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

Keterangan :

SB = Simpangan Baku

b = Slope

3.6.4 Penentuan Kadar Senyawa Fenolat Total (Pourmorad dkk, 2006)

Ekstrak etanol bunga senduduk ditimbang sebanyak 25 mg dilarutkan dengan 0,5 mL metanol masukkan dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan sampel ekstrak 500 µg/mL. Dipipet 0,5 mL larutan sampel, lalu ditambahkan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10) dengan aquadest, kemudian ditambahkan 4 mL larutan natrium karboonat 1 M, dikocok sampai homogen, dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit, lalu diukur absorban pada panjang gelombang 762 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan 3 kali pengulangan. Absorban yang didapatkan dimasukkan kedalam persamaan regresi sehingga didapatkan konsentrasi sampel. Lalu hitung kadar fenolat total dengan menggunakan rumus yang telah ditetapkan.

3.7 Analisa Data

3.7.1 Antioksidan

1. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs. kontrol (DPPH)} - \text{abs. sampel (DPPH)}}{\text{abs. kontrol (DPPH)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorban kontrol : Serapan larutan radikal DPPH 35 µg/ mL

Absorban sampel : Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 µg/mL

2. Penentuan Inhibition Concentration 50 %

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Untuk menentukan IC_{50} diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50 ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidannya.

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan Dengan Metode DPPH

Nilai IC_{50}	Intensitas antioksidan
<50 $\mu\text{g/mL}$	Sangat kuat
50-100 $\mu\text{g/mL}$	Kuat
100-150 $\mu\text{g/mL}$	Sedang
150-200 $\mu\text{g/mL}$	lemah
>200 $\mu\text{g/mL}$	Sangat lemah

3.7.2 Penetapan Kadar Fenolat Total

Kadar fenolat total dalam sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = a + bx$ dibuat berdasarkan data absorbansi (y) dan konsentrasi (x), dari larutan standar yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar.

$$\text{Kadar fenolat total} = \frac{C \times V \times FP}{Bs}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi larutan sampel($\mu\text{g/mL}$)

V = Volume larutan sampel (mL)

FP = Faktor pengenceran

Bs = Berat sampel

DAFTAR PUSTAKA

- Alam M.N., Bristi N.J., dan Rafiquzzaman M. 2013. "Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity". *Saudi Pharmaceutical*, 21(2):143-152.
- Alnajar, Z. A. A., Abdulla, M. A., Ali, H. M., Alshawsh, M. A., & Hadi, A. H. A. 2012. "Acute toxicity evaluation, antibacterial, antioxidant and immunomodulatory effects of *Melastoma malabathricum*". *Molecules*, 17(3), 3547-3559.
- Badarinath A., Rao K.M., Chetty C.M.S, Ramkanth S., Rajan T.V.S., dan Gnanaprakash K. 2010. "A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations". *International Journal of PharmTech Research*, 1276-1285.
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. 2013. "Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L.". *Molecules*, 18(6), 6852-6865.
- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. 2011. "Phenolic compounds in Brassica vegetables". *Molecules*, 16(1), 251-280.
- Emilan, T., Kurnia, A., Utami, B., Diyani, L. N., & Maulana, A. 2011. *Konsep herbal Indonesia: pemastian mutu produk herbal*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Dalimartha, Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Day, R.A., Underwood, A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi ke VI*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Dirjen Pelayanan Farmasi Dan Alat Kesehatan. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Buku. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Dirjen POM (Direktur Jenderal Pengawas Obat dan Makanan). 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Buku. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gholib, Djenudin. 2009. "Uji daya hambat daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *trichophyton mentagrophytes* dan *candida albicans*". *Berita Biologi*, 9(5), 523-527.
- Gholib, Djenudin. 2015. *Tanaman herbal anti cendawan*. Buku. Kementrian pertanian

- Hardiana, R., Rudiyanasyah, dan Zaharah, T.A. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 8-13.
- Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C.W., Barikmo I., Hvattum E., Remberg S.F., dan Blomhoff R. 2002. "Skrining Sistematis Total Antioksidan pada Tanaman Makanan. (A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants)". *The Journal of Nutrition*, 132(3):461-471.
- Hoelz, L. V. B., Horta, B. A. C., Araújo, J. Q., Albuquerque, M. G., de Alencastro, R. B., & Da Silva, J. F. M. 2010. "Quantitative structure-activity relationships of antioxidant phenolic compounds". *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5), 291-306.
- Irianti. T. T., Sugianto, Sindu. N., Kuswandi. 2017. Antioksidan. Yogyaarta: UGM
- Isnaini, I., Yasmina, A., & Nur'amin, H. W. 2019. "Antioxidant and cytotoxicity activities of karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) fruit ethanolic extract and quercetin". *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 20(2), 639.
- Jasson, N., 2005, The Determination of Total Phenolic Compounds in Green Tea, <http://folinciocalteu/method/colorimetric>, diakses pada 24 Januari 2014.
- Joffry, S. Mohd., N. J. Yob., M. S. Rofiee, M. M. R. Meor Mohd. Affandi, Z. Suhaili, F. Othman, A. Md. Akim, M. N. M. Desa, and Z. A. Zakaria. 2012. "Melastoma malabathricum (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents, And Pharmacological Properties: A Review". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Vol. 2012
- Liana, I. 2010. "Aktivitas antimikroba fraksi dari ekstrak metanol daun senggani (*Melastoma candidum* D. Don) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* serta profil kromatografi lapis tipis fraksi teraktif". *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Marsepriani, M. 2017. *Daya Hambat Ekstrak Daun Senduduk (Melastoma malabathricum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans*. skripsi. Padang: STKIP PGRI.
- Molyneux, P. 2004. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity". *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
- Mosquera, O. M., Correa, Y. M., Buitrago, D. C., & Niño, J. 2007. "Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity". *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102(5), 631-634.

- Noviyanty, Y., & Linda, A. M. 2020. "Profil fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L)". *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 3(1), 1-6.
- Pamungkas, J. D., Anam, K., & Kusriani, D. 2016. "Penentuan total kadar fenol dari daun kersen segar, kering dan rontok (*Muntingia calabura* L.) serta uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH". *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(1), 15-20.
- Pangestuty, A. (2016). *Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanol buah buni [*Antidesma bunius* L.(Spreng)] dengan metode 2, 2-difenil-1 pikrilhidrazil (DPPH) dan metode folin-ciocalteu*. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. 2006. "Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants". *African journal of biotechnology*, 5(11).
- Pramana, D. 2013. *Isolasi Zat Warna (Antosianin) Alami dari Buah Senduduk Bulu (*Melastoma Malabathricum* L.) dengan Metode Ekstraksi Padat-Cair (Leaching)*. Laporan Akhir. Palembang: Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Putra, B. R. S., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2013. "Isolasi Senyawa Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L)". *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16(3), 69-72.
- Regita, K. W. 2021. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun, Bunga, Dan Batang Pacing (*Costus speciosus*) Dengan Metode 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazin (DPPH)*. Skripsi. Lampung: UIN Raden Intan.
- Rohmatussolihat. 2009. "Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia". *BioTrends*, 4(1), 5-7, pp.6-7.
- Samiaty, M. I. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia Lateriflora* Blume Var. *Javanica* Boerl dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Fraksi yang Aktif*. Skripsi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sari, E. R., Nova, A., & Sahitri, L. 2016. "Skrining Senyawa Sitotoksik Dari Ekstrak Daun, Bunga, Buah, Batang Dan Akar Pada Tumbuhan Senduduk (*Melastoma Malabathricum* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Bioassay". *Scientia*, 6(1), 66-72.
- Shalaby E.A., dan Shanab S.M.M. 2013. "Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action". *Journal AJPP*, 7(10):535-537.
- Suharyanto, Nuraini H, Suryati T, Arief I.I, Sajuthi, D. 2019. "Potential Use of Senduduk (*Melastoma malabathricum*) Leaf Extract as Food Additive on Beef Sausage". *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* Vol. 8 No.1.

- Tahir, Masdiana, A., Muflihunna dan Syafrianti. 2017. "Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis". *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* Vol. 4 No. 1.
- Verawati, V., Nofiandi, D., & Petmawati, P. 2017. "Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar Fenolat total dan aktivitas antioksidan daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.)". *Jurnal Katalisator*, 2(2), 53-60.
- Watson DG. 1999. "pharmaceutical analysis a textbook for pharmacy student and pharmaceutical chemist". Churchill Livingstone. Edinburgh.
- Waterhouse, A. L. 2002. "Determination of total phenolics". *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), 11-1.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Buku. Yogyakarta: Kanisius
- Yolanda, F. A. 2017. *Uji Aktivitas Antioksidan, Sitotoksitas dan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Buah Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)*. Skripsi. Padang: Universitas Andalas.