

**PENETAPAN KADAR FENOLAT TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
KULIT BUAH KAPAS (*Gossypium hirsutum* L.)**

SKRIPSI



Oleh:

RISKA FAUZIAH

NIM :1904121

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

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan dapat merusak sistem imunitas tubuh disebut Radikal bebas. Radikal bebas ini berasal dari berbagai proses kimia dalam tubuh yang kompleks seperti polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, racun, makanan cepat saji, dan makanan yang di goreng pada suhu tinggi. Jika jumlah radikal bebas ini berlebih dalam tubuh akan dapat menyebabkan berbagai penyakit. Oleh karena itu, pembentukan radikal bebas haruslah dihambat atau dicegah dengan senyawa antioksidan (Widya *et al*, 2013).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang berada di radikal bebas, serta dapat menghalangi terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga digunakan untuk mengatur supaya tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan di dalam tubuh (Widya *et al*, 2013).

Pada tubuh manusia terdapat sistem pertahanan (antioksidan) berupa enzim yang mampu mencegah radikal bebas, namun karena jumlahnya yang kurang tidak mampu untuk menghambat kemampuan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan pada sel, jaringan dan organ. Oleh karena itu, perlu tambahan antioksidan dari luar tubuh (Sukmiwati, 2012).

Antioksidan terbagi dua jenis yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis (buatan) didapatkan dari sintesis reaksi kimia, Sedangkan antioksidan alami didapatkan dari ekstraksi bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan

(Saputra *et al*, 2013). Salah satu contoh antioksidan alami yaitu senyawa fenolat yang mempunyai aktivitas antioksidan. Kemampuannya sebagai senyawa biologi aktif memberikan peranan besar terhadap kepentingan manusia (Ahmad dkk, 2015). Menurut Khoddami, dkk (2013) peranan senyawa fenolat sebagai antioksidan secara langsung dapat menghilangkan ikatan rantai radikal bebas dan menangkap berbagai jenis spesies reaktif. sehingga mampu mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, menurunkan kejadian kanker dan diabetes, serta menurunkan tingkat mutagenesis pada sel.

Nilai total fenolat sangat berpengaruh terhadap kapasitas antioksidan. Semakin tinggi nilai total fenolat, maka semakin tinggi kemampuannya untuk menghambat radikal bebas. Semakin tinggi mereduksi antioksidan, maka semakin besar penekanan radikal bebas (Sandrasari., 2008).

Tanaman yang mengandung senyawa antioksidan alami (senyawa fenolat) salah satunya adalah tanaman kapas (Sutikno., 2014). Tanaman kapas *Gossypium Hirsutum L.* mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri atas flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang berfungsi sebagai antioksidan (Davis dkk., 2019). Tanaman kapas (*Gossypium hirsutum L.*) termasuk kedalam famili Malvaceae. Menurut Fry-xlell (1984) terdapat 39 spesies tanaman kapas yang diketahui, namun hanya 4 spesies dibudidayakan, selebihnya merupakan tanaman liar. Tanaman kapas ditemukan pada daerah beriklim tropis dan subtropis. (Soedibyo, 1998).

Pada penelitian terdahulu telah dilakukan penelitian tanaman kapas pada bagian daunnya, sedangkan pada bagian kulitnya belum ada diteliti. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Rahmadona, 2022) menyatakan bahwa daun kapas pada

panjang gelombang serapan maksimum 749 nm didapatkan kadar fenolat total sebesar 15,499%. Hasil uji aktivitas antioksidan pada panjang gelombang serapan maksimum 518 nm diperoleh nilai IC_{50} 19,35 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti daun kapas mempunyai aktivitas antioksidan yang bersifat sangat kuat.

Berdasarkan penjelasan diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai penetapan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari kulit buah kapas (*Gossypium hirsutum L.*) dengan metoda ekstraksi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pada penetapan kadar fenolat total menggunakan metoda Follin-Ciocalteu karena metoda ini merupakan metoda yang sederhana untuk pengukuran kandungan fenolat dari produk alam, sedangkan untuk pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metoda DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) karena metoda ini merupakan metoda yang cepat, sederhana, peka serta membutuhkan sampel dengan jumlah yang sedikit.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

1. Berapakah kadar fenolat total ekstrak etanol kulit buah kapas (*Gossypium hirsutum L.*) menggunakan metoda Follin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit kapas (*Gossypium hirsutum L.*) yang ditentukan dengan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kadar fenolat total dari ekstrak etanol kulit buah kapas menggunakan metoda Follin-Ciocalteu yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah kapas yang ditentukan dengan metoda DPPH.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memperluas dan meningkatkan pengetahuan peneliti dalam pengembangan karya ilmiah.
2. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah kapas.
3. Mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya alam yang berkehasiat sebagai antioksidan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Kapas

Klasifikasi tanaman kapas menurut Elvira (2014) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Malvales
Sub Ordo : Tiliceae
Family : Malvaceae
Sub Family : Nibisceae
Genus : *Gossypium*
Species : *Gossypium hirsutum* L.

2.1.2 Morfologi Tumbuhan



Gambar 1. *Gossypium hirsutum* L (1. Cabang generatif 2. Bunga 3. Buah 4. Buah yang telah terbuka) (Foto : Sumartini).

Tanaman kapas berkembang dari biji. Ketika berkecambah calon akar tunggang yang tumbuh masuk dahulu ke dalam tanah, lalu diikuti oleh keping biji. Bentuk akar tunggang pada kapas yaitu panjang dan dalam tergantung besar tanaman, umur dan struktur tanahnya. Akar tunggang akan bercabang dan keluar dari tanah. (Rusim, 2001). Menurut Elvira, (2014) akar tunggang memiliki panjang antara 180 – 200 cm dipengaruhi pada faktor kelembaban tanah, aerasi, suhu dan varietas. Pada kondisi tanah yang kering atau kelembaban rendah, panjang akar tunggang dapat mencapai 3 – 4 m. dari akar tunggang akan tumbuh akar lateral. Kelembaban yang cukup pada pertumbuhan lateral akan terkonsentrasi pada kedalaman 30-50 cm atau 1 m dari permukaan tanah. Akar lateral dapat tumbuh jika kondisi tanah kering atau kelembabannya kurang. Pada tanaman kapas, akar tunggang dapat tumbuh secara vertikal, sedangkan akar lateral tumbuh secara horizontal.

Tanaman kapas memiliki batang yang berwarna hijau tua, merah dan hijau bernokta merah. Umumnya batang kapas berbulu dan ada yang tidak, serta bagian ujungnya berbulu dan tidak berbulu di pangkalnya. Di setiap roasnya, tumbuh daun dan cabang pada ketiaknya. Daun pertama sampai kelima tidak sempurna karena bentuknya masih agak bulat dan panjang. Sesudah daun kelima, daun yang tumbuh mulai sempurna sesuai jenis kapas. Daun berwarna hijau kemerahan dan merah. Pada daun normal terdapat 5 sudut (lekukan), serta berbentuk bundar seperti jantung. (Rusim, 2001).

Tanaman kapas mulai berbunga yang mekar pada jam 7-9 di pagi hari dan akan layu saat menjelang siang. Pada bunga kapas terdapat tangkai bunga dengan ukuran berbeda yang dapat menghubungkan antara buah dan cabang. Apabila

penyerbukan berhasil maka akan terbentuk buah kapas yang masak setelah 40 – 70 hari. Buah kapas umumnya terdiri dari 3 – 5 ruang dengan bentuk dan ukuran yang berbeda. Pada Biji kapas, terletak didalam ruang buah dan terdiri dari dua baris biji dengan jumlah sekitar 9 biji. Biji kapas mempunyai panjang sekitar 6 – 12 mm dan berat 100 biji antara 6 - 17 g atau 65 – 70 persen total berat hasil. Pada kulit biji bagian luar terdapat lapisan serabut atau serat kapas dengan waktu yang dibutuhkan sekitar 13 - 15 hari dalam pemanjangan serat. (Elvira, 2014).

2.1.3 Nama Daerah

Tanaman kapas memiliki nama lain di berbagai daerah seperti kapas bayan di Lombok Barat, kapas Demak di Demak Jawa Tengah, kapas Grobogan di Grobongan Jawa Tengah, dan kapas Hulu di Palembang. (Ditjenbun, 1977).

2.1.4 Kegunaan Tanaman Kulit Buah Kapas

Kulit buah kapas adalah salah satu sampah organik yang masih sedikit dimanfaatkan. Pada umumnya tumbuhan kapas, kapas/isi buahnya yang dimanfaatkan. Biasanya digunakan untuk isian bantal dan kasur, sementara kulitnya menjadi limbah. Padahal, hasil penelitian yang dilakukan oleh Drs. Agus Dharmawan (dalam proses paten) menunjukkan kulit buah kapas dapat dimanfaatkan sebagai pengenyal makanan yang bernilai ekonomis. Pengenyal makanan yang ada umumnya kimiawi dan yang alami relatif masih mahal yang terbuat dari rumput laut (Trianto dkk., 2015).

Serabut kapas mempunyai kualitas mutu tinggi dijadikan sebagai benang dan dapat diolah menjadi pakaian. Serabut kapas kasar dapat dimanfaatkan menjadi kasur dan kertas bermutu tinggi. Biji kapas digunakan sebagai minyak goreng, margarin,

dan bahan sabun. Kulit buah kapas jika dibakar menjadi abu dapat digunakan sebagai pupuk berkalsium tinggi. (AAK, 1986).

2.1 Simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan alamiah yang dijadikan sebagai obat tanpa pengolahan apapun, berupa bahan yang sudah dikeringkan. Ada beberapa jenis Simplisia yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati diartikan sebagai simplisia yang berbentuk seperti tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tumbuhan didefinisikan sebagai isi yang spontan keluar dari suatu sel. Pembuatan simplisia diawali pada tahap pengumpulan bahan baku. Tahap selanjutnya yaitu sortasi basah, pencucian, pengeringan dan perajangan. Tahap akhirnya yaitu penyimpanan. (Departemen Kesehatan RI, 1985).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa kimia pada bahan yang larut sehingga dapat berpisah dari bahan yang tidak larut dalam pelarut cair. Ekstraksi pekat didapatkan dari mengekstraksi zat aktif pada simplisia nabati maupun hewani. Cara ekstraksi yang tepat tergantung dengan bahan tumbuhan yang digunakan dan jenis senyawa yang diisolasi. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.3.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi menurut Departemen Kesehatan RI (2000), menggunakan pelarut dapat dibagi menjadi beberapa cara yaitu :

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah suatu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Maserasi dilakukan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia dan cara pengerjaannya dilakukan dengan peralatan sederhana.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut baru dan sempurna yang dilakukan dengan melewati pelarut secara lambat dalam simplisia pada suhu ruangan. bahan.

2. Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhlet adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut baru, dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dalam jumlah pelarut relative konstan dengan pendinginan balik.

b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar yaitu pada temperatur 40-50°C

c. Infusa

Infusa adalah suatu proses ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup pada penangas air yang mendidih, temperatur terukur 96-98°C) dalam waktu sekitar 15-20 menit.

d. Dekok/ Dekoktasi

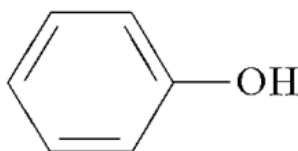
Dekok adalah ekstraksi yang mirip infusa, namun proses pemanasannya selama 30 menit sampai titik didih air pada suhu 90°C.

e. Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut pada temperature titik didihnya selama waktu tertentu dalam jumlah terbatas dan relative konstan dengan pendingin balik (kondensor).

2.4 Senyawa Fenolat

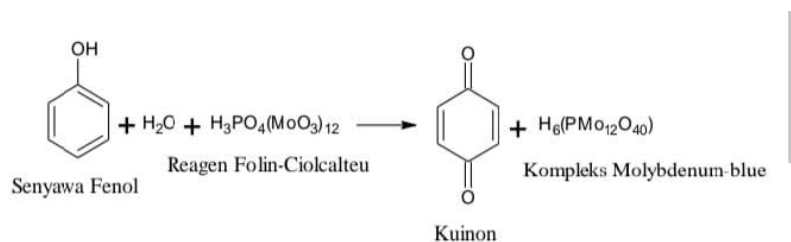
Senyawa fenolik adalah suatu senyawa dalam kelompok besar yang digunakan sebagai antioksidan alami. Senyawa fenolat terdiri dari satu atau lebih cincin fenol, yang disebut sebagai gugus hidroksil dan terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan membagikan atom hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa fenolik memiliki kemampuan membentuk radikal fenoksi yang stabil dalam reaksi oksidasi, sehingga sangat berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa fenolik alami dapat berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester, atau glikosida, terdiri atas flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat, dan asam organik polifungsional. (Dhurhania & Novianto, 2018).



Gambar 2. Struktur Fenol (Grafianita, 2011).

2.5 Metode Folin-Ciocalteu

Metode Folin Ciocalteu adalah metode yang paling sederhana dalam mengukur kandungan senyawa fenolat suatu produk. Metode ini terdapat dari pengembangan reagen Follin Denis sejak awal abad ke-19 untuk menentukan tirosin pada protein. Reagen ini dapat stabil bila dilindungi dari reduktan dan cahaya. Metode ini digunakan untuk mengukur kandungan senyawa polifenol dalam suatu produk alami. (Agbor *et al.*, 2014).

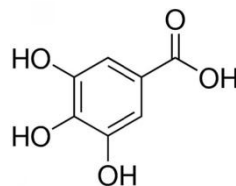


Gambar 3. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol (Hardiana dkk., 2012).

Berdasarkan gambar diatas, reaksi yang terjadi yaitu reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolat dapat mereduksi fosfomolibdat – fosfotungstat dengan metode Follin – Ciocalteu sehingga membentuk molybdenum yang berwarna biru.

2.6 Asam Galat

Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat) merupakan golongan senyawa fenolik tetapi tidak tergolong dalam senyawa flavonoid. Gugus fungsi dari struktur asam galat yang bertanggung jawab dalam memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil (Lopez *et al.*, 2003).



Gambar 4. Struktur Asam Galat (Maesaroh, 2018).

Suatu senyawa yang digunakan sebagai antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah gugus fenol, posisi gugus -OH dalam senyawa (Borra *et al.*, 2013). Gugus fungsional dalam asam galat yaitu -OH yang bereaksi dengan radikal bebas sehingga mampu menghindari proses oksidasi. Menurut Marino *et al.*, (2014), asam galat dapat bereaksi dengan radikal bebas peroksi dan hidroksiperoksi yang berasal dari reaksi oksidasi dan digunakan sebagai standar dalam penetapan kadar fenolat total karena asam galat dibentuk dari 3-dehydroshikimic acid pada jalur sikimat yang melewati beberapa tahap reaksi kimia sehingga didapatkan asam amino aromatik yaitu L-phenylalanine, L-tyrosine yang membentuk struktur dasar (Lopez *et al.*, 2003).

2.7 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan, diantaranya yaitu hidroksil dan superoksida. Molekul ini memiliki sifat yang sangat reaktif saat mencari pasangan elektron sehingga radikal bebas sulit dideteksi. (Fessenden *et al.*, 1989). Elektron yang tidak berpasangan mengakibatkan senyawa radikal bebas menjadi sangat reaktif dalam sel tubuh dengan mengikat elektron molekul sel sehingga membentuk ikatan kovalen (Umayah *et al.*, 2007).

Umumnya molekul biologi tidak bersifat radikal. Apabila molekul non radikal dan radikal bebas bertemu, akan membentuk suatu molekul radikal bebas yang baru. Radikal bebas dapat menghambat proses DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang berada dalam tubuh. Electron yang diambil Radikal bebas dari DNA akan merubah struktur DNA sehingga dapat menimbulkan sel-sel muatan. Radikal bebas memiliki peran dalam proses penuaan, dimana reaksi inisiasi di mitokondria mengakibatkan Reactive oxygen species (ROS) diproduksi yang bersifat reaktif (Werdhasari, 2014)

2.8 Antioksidan

Secara kimia antioksidan didefinisikan sebagai senyawa elektron donor (senyawa yang memberikan elektron). Namun secara biologis, antioksidan dapat diartikan sebagai senyawa yang menangkal atau merendam dampak negatif oksidan. Antioksidan beraktivitas dengan memberikan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat sebagai oksidan sehingga dapat menghambat aktivitas senyawa oksidan. (Winarti, 2010).

Menurut Sayuti dan Yenrina, (2015), Antioksidan terdiri dari dua kelompok, yaitu :

1. Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil produksi secara sintetik dan bertujuan untuk komersial. Antioksidan ini dimanfaatkan untuk produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).

2. Antioksidan alami

Antioksidan alami adalah antioksidan yang didapatkan dari hasil metabolisme tubuh seperti glutathione peroxidase (GSH-Px), katalase dan super oksida dismutase (SOD) atau dari bahan alam seperti vitamin C, senyawa fenol atau polifenol (golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol).

Berdasarkan mekanisme reaksi terhadap radikal bebas, antioksidan dibagi menjadi tiga bagian (Sayuti dan Yenrina, 2015).

1. Antioksidan Primer (Antioksidan Enzimatis)

Antioksidan primer terdiri dari enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathione peroxidase (GSH-Px). Senyawa yang termasuk antioksidan primer apabila dapat secara cepat memberikan atom hydrogen kepada senyawa radikal sehingga berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Fungsi Antioksidan ini untuk menghambat atau memutuskan mekanisme radikal bebas pada proses autooksidasi, yang berperan sebagai donor hydrogen dan akseptor electron. Contohnya yaitu tokoferol, flavonoid, dan asam askorbat.

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Non Enzimatis)

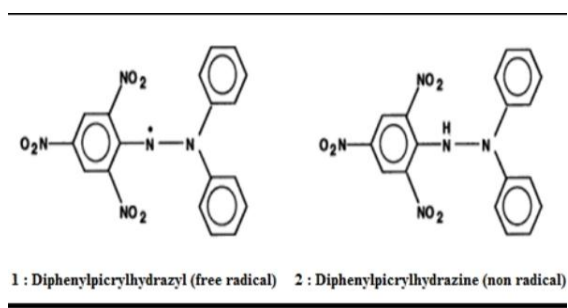
Antioksidan sekunder adalah antioksidan eksogenus atau sistem pertahanan preventif. Senyawa oksigen reaktif yang terbentuk dapat dihambat dengan perkelatan metal atau dirusak pembentukannya. Antioksidan ini digunakan untuk menangkap radikal bebas, kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya contohnya : asam sitrat, asam askorbat.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier terdiri atas system enzim DNA-repair dan metionim sulfoksida reduktase. Enzim ini berguna untuk perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

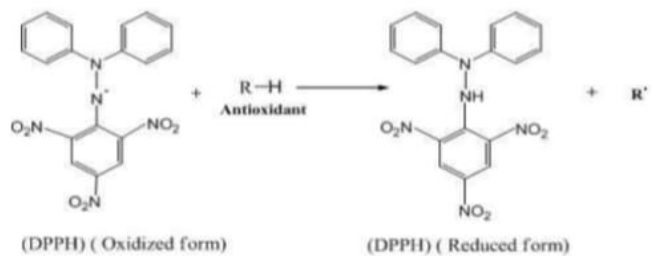
2.9 Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

DPPH dapat diartikan sebagai bubuk Kristal yang memiliki warna gelap terbagi dari molekul radikal bebas yang stabil dan berfungsi untuk pengujian aktivitas antioksidan secara in vitro. Panjang gelombang maksimum dihitung dengan spektrofotometri UV-Vis sekitar 400-800 nm. (Sayuti dan Yenrina, 2015).



Gambar 5. Struktur DPPH (Molyneux, 2004)

Senyawa antioksidan menangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan pada radikal DPPH. Antioksidan bekerja dengan membagikan atom hidrogennya sehingga dapat mereduksi radikal DPPH dan akan mengubah warna larutan dari warna ungu menjadi warna kuning. Apabila senyawa antioksidan semakin kuat, maka warna yang dapat diamati semakin pudar. (Sayuti dan Yenrina, 2015). Adapun reaksi pada DPPH dan antioksidan :



Gambar 6. Reaksi DPPH dan Antioksidan (Tristantini dkk., 2016)

Inhibition Concentration (IC_{50}) merupakan sebuah parameter yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dengan konsentrasi zat dalam pada antioksidan yang menghambat radikal DPPH sebesar 50%. Bila IC_{50} semakin kecil, maka kemampuan antioksidan yang digunakan semakin besar (Molyneux, 2004).

2.10. Validasi metode Analisis

Validasi adalah suatu aktivitas konfirmasi menggunakan metode analisis sesuai dengan tujuan tertentu. *United States Pharmacopeia* (USP) mengatakan bahwa validasi dapat menjamin metode analisis secara akurat, spesifik, reproduibel dan tahan terhadap kisaran analit yang akan dianalisis. Ada beberapa parameter yang di validasi dalam metode analisis sebagai berikut :

1. Batas Deteksi (Limit of Detection, LOD).

Batas deteksi adalah suatu analit yang berkonsentrasi rendah pada sampel dan masih terdeteksi tetapi sedikit sulit untuk di kuantifikasi. LOD memiliki batas uji yang spesifik dalam menentukan apakah analit dibawah atau diatas nilai tertentu. Dalam menentukan nilai LOD dapat menggunakan rumus $3 \times SB/b$. (Rohman, 2019).

2. Batas Kuantitasi (Limit of Quantitation, LOQ).

Batas kuantifikasi merupakan suatu analit yang memiliki konsentrasi terendah pada sampel ditentukan dengan akurasi dan presisi dalam keadaan operasional metode yang digunakan. Nilai LOQ dapat ditentukan dengan rumus : $10 \times SB/b$. (Rohman, 2019).

3. Presisi

Presisi didefinisikan sebagai suatu metode analisis dengan pengulangan ukuran yang digunakan sebagai simpangan baku relatif pada sampel dengan perbedaan signifikan secara statistic. Dokumentasi presisi terdiri atas: simpangan baku, simpangan baku relatif, atau koefisien variasi dan kisaran kepercayaan. Presisi disebut juga sebagai simpangan baku relatif dalam beberapa data (Rohman, 2019).

4. Akurasi

Akurasi adalah metode analisis yang teliti atau mendekati nilai terukur dengan nilai yang diterima oleh nilai konvensi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Akurasi dapat dinilai dengan jumlah analit yang didapatkan kembali dari pengukuran menggunakan spiking pada sampel. Senyawa obat akurasi dapat ditentukan pada perbandingan antara hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar. (Rohman, 2019).

5. Linieritas

Linieritas yaitu metode untuk mendapatkan hasil pengujian secara langsung proporsional menggunakan konsentrasi analit dalam kisaran tertentu. Linieritas suatu metode diartikan sebagai ukuran seberapa baik ukuran kalibrasi dalam menggabungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). perolehan data berikutnya

dilakukan dengan metoda kuadrat kecil, dan dapat menentukan nilai kemiringan (slope), intersep dan koefisien korelasi. (Rohman, 2019).

2.11. Spektrofotometri UV-Vis

2.11.1 Pengertian Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah alat untuk menganalisa secara kualitatif maupun kuantitatif dilakukan dengan mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Panjang gelombang pada Sinar Ultraviolet antara 200-400 nm, sedangkan panjang gelombang pada sinar tampak (*visible*) antara 400-800 nm. Spektrum UV-Vis berbentuk lebar tetapi informasi yang didapatkan hanya sedikit, sehingga spectrum digunakan untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi suatu analit di dalam larutan ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004).

2.11.2 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (Beer's law) merupakan hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit. Absorpsi sinar pada larutan mengikuti hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = \log (I_0 / I_t) = abc$$

Keterangan :

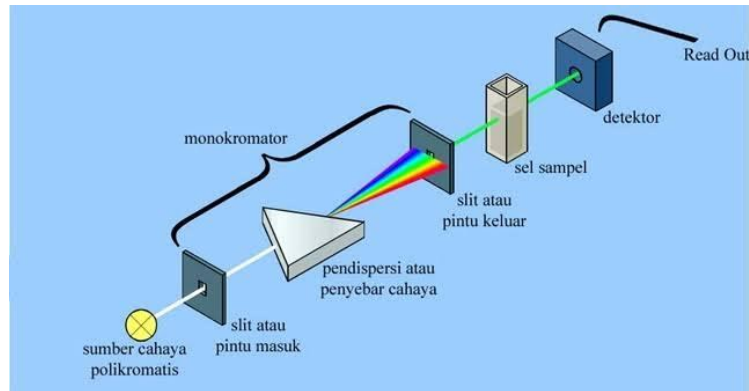
A = Absorptivitas (serapan)

I_0 = Intensitas sinar datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

b = Panjang sel / kuvet

2.11.3 Bagian-bagian spektrofotometer UV-Visibel



Gambar 7. Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 2009)

Keterangan:

1. Sumber Cahaya

Untuk memperoleh pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya sehingga menghasilkan sinar dengan kekuatan kontinu dan merata pada panjang gelombang dan stabil selama waktu yang dibutuhkan.

2. Monokromator

Digunakan untuk menghamburkan cahaya ke dalam panjang gelombang unsumnya, diseleksi lebih lanjut dengan celah monokromator berotasi sehingga rentang panjang gelombang dilewatkan melalui sampel.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan dibuat sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk, kuvet digunakan untuk sinar tampak yang biasanya terbuat dari kaca atau plastic

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. Alat Baca (visual display/rekorder)

Rekorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor. Untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang disebut blanko.

2.11.4 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun lampu tungsten yang bersifat polikromatis akan di teruskan melalui celah menuju ke monokromator pada spektrofotometri dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis (banyak) menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada juga yang dilewatkan. Kemudian diterima oleh detektor yang akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif. (Dachriyanus, 2004).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Novembar 2022 sampai bulan Juni 2023 di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang, Sumatera Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator, Spektrofotometer UV-Vis T92+, corong pisah, corong, gelas ukur, spatel, pipet tetes, Erlenmeyer, labu ukur, botol berwarna gelap, beaker glass, kaca arloji, vial, tabung reaksi, krus porselen, oven, aluminium foil, timbangan analitik, plat tetes, cawan penguap, blender, botol, kapas, botol semprot, dan pipet volume (Pyrex).

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit buah kapas (*Gossypium hirsutum* L.) bahan kimia diantaranya etanol 96% T, etanol 70% T, metanol (p.a) DPPH, asam galat, aquadest, natrium karbonat, reagen Follin-Ciocalteau, FeCl_3 , H_2SO_4 pekat, $\text{HCl}_{(p)}$ logam Mg, kloroform, kloroform amoniak, serbuk Mg, asam asetat anhidrat, HCl 2N, pereaksi Mayer, norit dan bahan lainnya.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tanaman kulit buah kapas (*Gossypium hirsutum* L.) sebanyak 2 Kg. Pengambilan dan pengumpulan sampel dilakukan di Siulak Mukai, Kerinci, Jambi

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi tanaman dilakukan untuk memastikan jenis (spesies) tanaman yang digunakan untuk penelitian. Identifikasi dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas Padang.

3.3.3 Pembuatan Simplisia Kulit Kapas

2 Kg kulit buah kapas segar diambil dan disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari selama 5 hari, setelah kering kulit kapas dipotong-potong kecil dan diserbukkan menggunakan blender sampai menjadi simplisia. Lalu timbang berat simplisia yang didapatkan sebesar 500 gram.

3.3.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Kapas

Semua serbuk simplisia kulit kapas dimasukkan ke dalam botol maserasi dan direndam dengan pelarut etanol 70% sampai seluruh serbuk terendam dalam botol maserasi gelap. Dibiarkan selama 2 x 24 Jam, sesekali diaduk (setiap 6 Jam), lalu kemudian saring dengan kertas saring untuk mendapatkan maseratnya, lalu ampasnya direndam lagi dengan etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan beberapa kali pengulangan sampai didapatkan larutan bening. Gabungkan semua maserat yang

didapatkan, uapkan dengan penguap vakum, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 30-40 °C hingga diperoleh ekstrak etanol kental (Badan POM RI, 2004).

3.3.5 Karakteristik Ekstrak

1. Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak

Untuk mengetahui karakteristik ekstrak sampel, identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan melalui panca indra meliputi bentuk, warna dan aroma ekstrak. (Departemen Kesehatan RI, 2008)

2. Penentuan Rendemen Ekstrak

Timbang sampel kering, kemudian hasil ekstrak kental yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

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

3. Susut Pengeringan Ekstrak (Sudamardji dkk., 1997)

krus porselen dan tutupnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Dinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang beratnya. Lalu masukkan ekstrak kental sebanyak 1-2 gram. Kru porselen yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dari oven dan dinginkan dalam desikator selama 10-15 menit, Kemudian ditimbang. Lakukan sampai didapatkan berat yang konstan. Susut pengeringan dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

A = Berat krus kosong (gram)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (gram)

C = Berat krus + sampel setelah

4. Kadar Abu (Sudarmadji *dkk.*, 1997)

Ekstrak kental ditimbang 2-3 gram dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditimbang. Dipijarkan dengan nyala api kecil sampai zat mengarang semua. Masukkan dalam furnace pada suhu 600⁰C selama 6 jam, hingga arang habis yang ditandai dengan warna abu-abu. Lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu. Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A}$$

Keterangan :

A = bobot krus kosong (g)

B = bobot krus + sampel sebelum dipijarkan (g)

C = bobot krus + sampel setelah dipijarkan (g)

3.3.6 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak (Harborne, 1987)

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu tambahkan kloroform dan air masing-masingnya 5 mL (1:1), kemudian kocok kuat dan biarkan sejenak hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan kloroform.

Pada lapisan air dilakukan pengujian sebagai berikut:

1. Uji Flavonoid

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes $\text{HCl}_{(p)}$, timbulnya warna kuning-orange atau merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Uji Fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1–2 tetes pereaksi FeCl_3 5%, terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya senyawa fenolik. Jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat menandakan adanya kandungan fenol.

3. Uji Saponin

Lapisan air dikocok kuat dalam tabung reaksi hingga terbentuk busa yang tidak hilang (permanen) selama ± 15 menit, ini menunjukkan adanya saponin.

Pada lapisan Kloroform dilakukan pengujian sebagai berikut:

1. Uji Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform diambil 1-2 tetes lalu disaring dengan norit aktif. Hasil saringan ditetaskan pada plat tetes. Biarkan kering lalu tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dengan 1 tetes $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$, warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa steroid.

2. Uji Alkaloid (Metode Culvenore – Fristgerald)

Ambil 1 mL lapisan kloroform ditambahkan 1 mL kloroform amoniak 0,05 N dan 1 mL asam sulfat 2 N, kemudian kocok perlahan dan biarkan memisah. Lapisan asam dipipet dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian

tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.7 Pembuatan Reagen

1. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 1 M

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

2. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (500 µg/mL)

Sebanyak 12,5 mg asam galat masukkan ke dalam labu ukur 25 mL dilarutkan dengan 0,5 mL metanol p.a kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 500 µg/mL. (Waterhouse, 1999)

3. Pembuatan Larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 35 µg/mL

Timbang 10 mg DPPH masukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian pipet 17,5 mL larutan DPPH masukkan dalam labu ukur 50 mL, lalu tambahkan metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan konsentrasi 35 µg/mL. (Molyneux, 2004).

4. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 25 mg ekstrak etanol kulit buah kapas dilarutkan dengan 0,5 mL metanol p.a, kemudian tambahkan dengan aquadest sampai volume pada labu ukur menjadi 25 mL, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak 1000 µg/mL.

3.3.8 Penentuan Kadar Fenolat Total dengan Metoda Follin-Ciocalteu.

1. Pembuatan Deret Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan induk asam galat 500 ppm dipipet sebanyak (0,8; 1,2; 1,6; 2; 2,4) mL diencerkan dengan metanol p.a : aquadest (1 : 1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasinya 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{g/mL}$ asam galat. Dari masing-masing larutan dipipet 0,5 mL kemudian dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 aquadest) tambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M biarkan selama 15 menit.

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Diambil salah satu deret dengan konsentrasi 120 $\mu\text{g/mL}$ yang telah diperoleh. Diukur serapan dari asam galat pada panjang gelombang 400-800 nm untuk mendapatkan panjang gelombang serapan maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis. (Patria & Soegihardjo, 2013).

3. Penentuan Kurva Kalibrasi Larutan Asam Galat

Deret Asam galat dengan konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{g/mL}$ yang diperoleh. Selanjutnya diukur serapan dari asam galat pada panjang gelombang 400-800 nm dan dibuat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi linearnya dapat dihitung. (Mosquera dkk., 2007).

4. Perhitungan Batas Deteksi (Limit of Detection, LOD) dan Batas Kuantitasi (Limit of Quantitation, LOQ).

Setelah diukur absorbannya kemudian dihitung nilai Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK). Pada uji BD dan BK dilakukan secara statistik melalui

persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi, dimana respon instrument berhubungan linier dengan konsentrasi. Berikut adalah rumus mencari BD dan BK, dinyatakan dalam $BD = 3 \times SB/b$ dan $BK = 10 \times SB/b$, dimana SB = Simpangan Baku, b = Slope.

5. Penentuan Kadar Fenolat Total Kulit Buah Kapas Dengan Metode Folin Ciocalteu

Pipet 0,5 mL larutan sampel 1000 ppm tambahkan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 aquadest), kemudian tambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M, kocok homogen, diamkan selama 15 menit dan ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 765 nm yang akan memberikan kompleks warna biru. (Pourmorad dkk., 2006)

3.3.9 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 35 ppm dipipet kemudian ditambahkan 2 mL campuran metanol p.a dan aquadest (1:1), larutan dihomogenkan dan didiamkan 30 menit di tempat yang gelap. Ukur panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang 400-800 nm. (Mosquera dkk., 2007)

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat

Dipipet 10 mL larutan induk asam galat (500 µg/mL), kemudian dilarutkan dalam campuran metanol p.a 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) mL masukkan dalam labu ukur 10 mL, tambahkan campuran metanol p.a dan aquadest (1:1) sampai tanda

batas sehingga diperoleh konsentrasi (1, 2, 3, 4, 5) $\mu\text{g/mL}$. Dipipet masing-masing larutan sebanyak 2 mL lalu masukkan ke dalam vial, tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$. Diamkan selama 30 menit di tempat gelap. Tentukan absorbannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 520 nm. Hitung % inhibisinya sehingga diperoleh persamaan regresi linier dan IC_{50} dari ekstrak kulit buah kapas. (Pourmorad dkk., 2006).

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kapas

Ditimbang sampel sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan sampel konsentrasi (250 $\mu\text{g/mL}$). Dari larutan sampel dipipet (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1) mL, tambahkan metanol p.a : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi (5; 10; 15; 20; 25) $\mu\text{g/mL}$. Pipet masing-masing konsentrasi larutan sampel sebanyak 2 mL, lalu masukkan ke dalam vial, tambahkan 4 mL larutan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$. Diamkan selama 30 menit di tempat gelap. Ukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 520 nm. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan) dan IC_{50} . (Mosquera dkk., 2007)

3.3.10 Analisa Data

1. Penentuan Kadar Fenolat Total

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

$$\text{Kadar fenolat total} = \frac{C \times V \times F_p}{B_s}$$

Keterangan:

C = Konsentrasi larutan sampel (µg/mL)

V = Volume larutan sampel (mL)

F_p = Faktor pengenceran

B_s = Berat sampel (g)

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan

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

a. % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorben kontrol} - \text{Absorben sampel}}{\text{Absorben kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = Serapan larutan radikal DPPH 35 µg/mL

A_{samplel} = Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 µg/mL.

b. Nilai IC₅₀

IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat menghambat radikal bebas DPPH sebanyak 50% yang dapat menghambat regresi linier yang diperoleh. Untuk menentukan IC₅₀ diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. nilai IC₅₀ dihitung dengan memasukkan nilai 50 ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y

kemudiaan dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin rendah IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan (Kate, 2014).

Intensitas Antioksidan	Nilai IC₅₀
Sangat Kuat	<50 µg/ ml
Kuat	50-100 µg/ mL
Sedang	101-150 µg/mL
Lemah	>150 µg/ mL

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, G. A., Vinson, J. A., & Donnelly, P. E. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent For Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*, 3(8), 147-156.
- Ahmad, A.R., Juwita, Ratulangi, S.A.D., dan Malik, A. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*; 2(1):1-10.
- AAK. 1986. *Bertanam Kapas*. Kanisius: Yogyakarta.
- Badan POM RI. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Cetakan Pertama: Jakarta.
- Borra, S.K., Gurumurthy, P., Mahendra, J., K.M. Jayanmathi, C.N. Cherian, & Chand, R., 2013. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(36), 2680-2690
- Dachriyanus, D. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Cetakan Pertama. LPTIK Universitas Andalas: Padang.
- Davis, V., Maarisit, W., Karauwan, F., & Untu, S. 2019. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kapas *Gossypium hirsutum* Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 71-77.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Tradisional*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I: Jakarta.
- Dhurhania, C. E., & Novianto, A. 2018. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62-68.
- Ditjenbun. 1977. *Varietas dan Sifat-Sifat serta Kualitas Kapas di Indonesia*: Deptan.
- Elvira, Sari. D. 2014. *Aspek Agronomi Kapas*. Dapur Buku. Jakarta Timur.

- Fessenden R J, Fessenden J S. 1986. *Kimia Organik (Ed. 3, Jilid 1)*. Penerjemah : A. H. Putjaatmaka. Jakarta : Erlangga.
- Fryxell, P.A. 1984. *Taxonomy and Germplasm Resources Cotton Agron.* 24, 81- 129.
- Grafianita., 2011. Kadar Kurkuminoid Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Simplisia Temulawak (*Curcuma Xanthorriza* Roxb.) Pada Berbagai Teknik Pengeringan. *Skripsi Program Studi Teknologi*. UNS: Surakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB: Bandung.
- Hardiana, R., & Rudiyanisya, T. A. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 8-13.
- Kate, D.I. 2014. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhydrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hallier f.). *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- Lopez, M., Martinez, F., Del Valle, C., Ferrit, M., & Luque, R. 2003. Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants by A Fluorescence Method. *Talanta*, 60(2-3): 609-616.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2): 93-100.
- Marino, T., Galano, A., & Russo, N., 2014. Radical Scavenging Ability of Gallic Acid Toward OH and OOH Radicals: Reaction Mechanism and Rate Constants From the Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(35): 10380-10389.
- 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.

- 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): 1142-1145.
- Rahmadona, S., Martinus., & Fera, O. 2022. Penetapan Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium Hirsutum L*) menggunakan Spektrofotometer Uv Vis. UPERTIS: Padang.
- Rohman, A. 2019. *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Rusim, M. 2001. *Biologi Tanaman Kapas*. Monografi Balittas, Balai Penelitian Tanaman Tembakau Dan Serat 1(7): 1-9.
- Sandrasari, D. A. 2008. Kapasitas Antioksidan dan Hubungannya dengan Nilai Total Fenol Ekstrak Sayuran Indigenous. *Tesis Sekolah Pascasarjana*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Saputra, I., Prihardini, G., Zullaikah, S., & Rachimoellah, M. 2013. Ekstraksi Senyawa Bioaktiv dari Daun Moringa Oleifera. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. *Jurnal Teknik Pomits*, 2(1): 1-5.
- Sayuti, K. & Rina, Y. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press: Padang.
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan , Manfaat dan Kegunaan*. Balai Pustaka: Jakarta.
- Sudarmadji, S. B., Haryono, & Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty: Yogyakarta.
- Sukmiwati, M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Pada 16 Spesies Teripang Yang Ditemukan Pada Perairan Natuna Kepulauan Riau. *Respository Universitas of Riau Jurusan Teknologi Hasil Pertanian*; 222-227.
- Sumartini, S., Mardjono, R., & Prabowo, H. (2013). *Peningkatan Produktivitas dan Pendapatan Petani Kapas*. Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat: Malang.
- Sutikno, A. I. (2014). Tanaman Kapas dan Kaitannya dengan Gosipol. *JITV Balai Penelitian Ternak*, 19(3), 7-11.
- Triant, W. N. M., Purnamaningsih, S. L., Respartijarti, & Sulistyowati, E. (2015). Uji Daya Hasil Pendahuluan Delapan Galur F6 Kapas (*Gossypium hirsutum L.*). *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(2): 164-172.

- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T. & Jonathan, J. G. 2016. *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L).* Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia Yogyakarta.
- Umayah, E. U. dan Amrun M. H. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* Haw). *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(1): 83-90
- Waterhouse, A. 1999. *Folin-Ciocalteau Micro Method for Total Phenol in Wine*, Department of Viticulture & Enology University of California. Davis.
- Watson, & David, G. 2009. *Analisis Farmasi*, Edisi 2, Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Werdhasari, A. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Biotek Medisiana Indonesia.
- Selawa, W., Max, R. J, & Gayatri, C. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*(Ten.)Steenis.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1): 2302-2493.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Graha Ilmu: Jakarta.