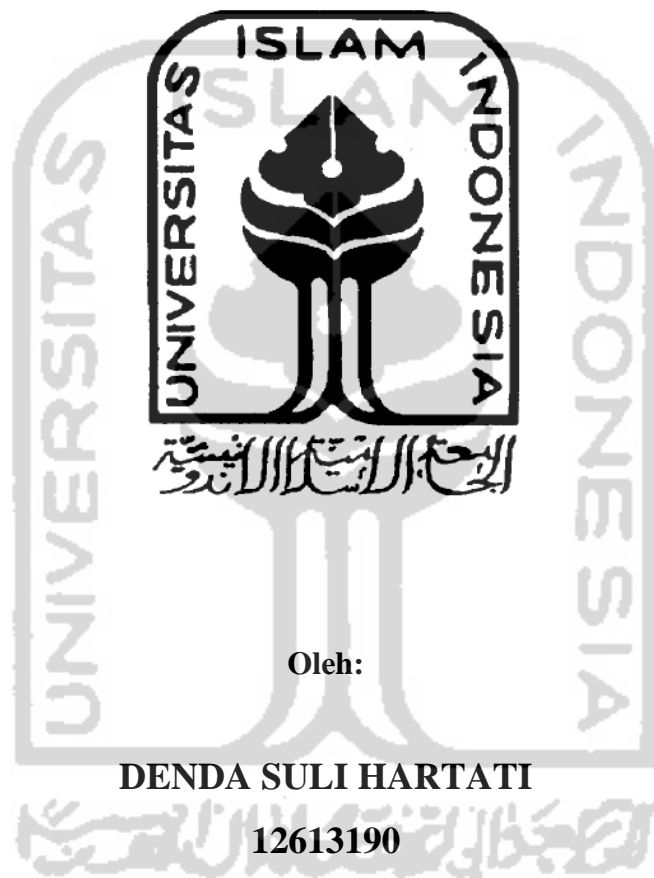


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN BENALU (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser)
YANG TUMBUH PADA INANG RAMBUTAN DENGAN
METODE DPPH**

SKRIPSI



Oleh:

DENDA SULI HARTATI

12613190

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
DESEMBER 2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN BENALU (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser)
YANG TUMBUH PADA INANG RAMBUTAN DENGAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh:

DENDA SULI HARTATI

12613190

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
DESEMBER 2016**

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN BENALU (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser)
YANG TUMBUH PADA INANG RAMBUTAN DENGAN
METODE DPPH



Yang diajukan oleh:

DENDA SULI HARTATI
12613190

Telah disetujui oleh:



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt.

Sista Werdyani, M.Biotech., Apt.

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN BENALU (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser)
YANG TUMBUH PADA INANG RAMBUTAN DENGAN
METODE DPPH





Oleh:

DENDA SULI HARTATI

12613190

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 19 Desember 2016

Ketua Penguji: Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt. ()
Anggota Penguji: 1. Sista Werdyani, M.Biotech., Apt. ()
2. Hady Anshory M.Sc., Apt. ()
3. Dra. Suparmi, M.Si., Apt. ()

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Drs. Alfwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang Pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 19 Desember 2016

Penulis,

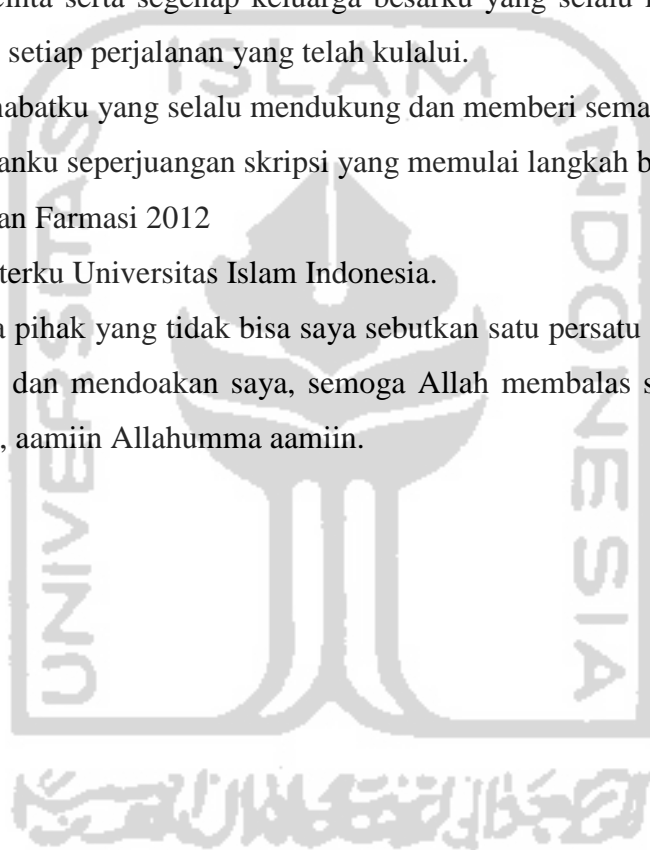


Denda Suli Hartati

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sungguh karena kebesaran-NYA lah karya tulis ini dapat diselesaikan. Karya tulis ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orangtua yang selalu mendukung dan mencurahkan doanya untuk kemudahan setiap urusan anak-anaknya.
2. Adikku tercinta serta segenap keluarga besarku yang selalu mendoakan dan mendukung setiap perjalanan yang telah kulalui.
3. Sahabat-sahabatku yang selalu mendukung dan memberi semangat.
4. Teman-temanku seperjuangan skripsi yang memulai langkah bersama-sama.
5. Teman-teman Farmasi 2012
6. Almamaterku Universitas Islam Indonesia.
7. Serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang turut serta mendukung dan mendoakan saya, semoga Allah membalas segala kebaikan anda semua, aamiin Allahumma aamiin.



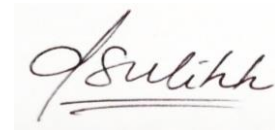
KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Prodi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt., dan Ibu Sista Werdyani, M.Biotech., Apt. selaku dosen pembimbing.
2. Bapak Hady Anshory M.Sc., Apt. dan Ibu Dra. Suparmi, M.Si. Apt. selaku dosen penguji.
3. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas MIPA UII, Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi, dan Bapak Aris Perdana Kusuma M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
4. Bapak Yon dan Riyanto selaku laboran di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah Swt berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, peneliti-peneliti penerus bangsa maupun bagi masyarakat umum.

Yogyakarta, 19 Desember 2016



Denda Suli Hartati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II STUDI PUSTAKA.....	4
2.1. Tinjauan Pustaka.....	4
2.1.1. Benalu (<i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl.) Denser).....	4
2.1.2. Radikal Bebas dan Antioksidan.....	5
2.1.3. Flavonoid.....	7
2.1.4. Simplisia.....	7
2.1.5. Ekstraksi.....	8
2.1.6. Fraksinasi.....	8
2.1.7. Spektrofotometri UV-VIS.....	9

2.1.8. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	9
2.2. Landasan Teori.....	10
2.3. Hipotesis.....	10
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1. Bahan dan Alat.....	11
3.1.1. Bahan	11
3.1.2. Alat	11
3.2. Cara Penelitian	11
3.2.1. Penyiapan Bahan dan Determinasi Tanaman	11
3.2.2. Pembuatan Simplisia Daun Benalu Rambutan	11
3.2.3. Deklorofilasi dan Maserasi	12
3.2.4. Fraksinasi.....	12
3.2.5. Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia	13
3.2.6. Uji Aktivitas Antioksidan	14
3.2.7. Analisis Kuantitatif Flavonoid Total	15
3.3. Analisis Hasil.....	15
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1. Penyiapan Bahan dan Determinasi Tanaman.....	17
4.2. Pembuatan Ekstak Daun Benalu Rambutan.....	17
4.3. Fraksinasi	18
4.4. Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia	19
4.4.1. Uji Kualitatif Flavonoid.....	20
4.4.2. Uji Kualitatif Tanin	21
4.4.3. Uji Kualitatif Alkaloid.....	22
4.5. Uji Aktivitas Antioksidan	22
4.5.1. Uji Kualitatif Antioksidan	22
4.5.2. Uji Kuantitatif Antioksidan	23
4.6. Penetapan Kandungan Flavonoid Total	26

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
5.1.KESIMPULAN.....	28
5.2. SARAN.....	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Benalu Rambutan	5
Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan Antioksidan.....	6
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid	7
Gambar 3.4 Skema Penelitian	16
Gambar 4.1 Maserat	18
Gambar 4.2 Ekstrak Kental	18
Gambar 4.3 Hasil Fraksinasi	18
Gambar 4.4 Hasil Uji Kualitatif Flavonoid.....	21
Gambar 4.5 Senyawa Tanin pada Sinar Tampak setelah Disemprot FeCl_3	21
Gambar 4.6 Senyawa Alkaloid Pada Sinar Tampak Setelah Disemprot <i>Dragendroff</i>	22
Gambar 4.7 Ekstrak dan Fraksi Setelah Disemprot DPPH pada Sinar Tampak.....	23
Gambar 4.8 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan PersenPenghambatan Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Benalu.....	24
Gambar 4.9 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan PersenPenghambatan Antioksidan Standar Kuersetin	24
Gambar4.10Grafik hubungan antara konsentrasi dan absorbansi kuersetin	27

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Data Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Benalu Rambutan.....	19
Tabel 4.2 Hasil uji kualitatif kandungan senyawa kimia daunbenalu rambutan	20
Tabel 4.3 Nilai IC ₅₀ Ekstrak dan Fraksi Daun Benalu	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Hasil Determinasi	31
Lampiran 2 Perhitungan	32
Lampiran 3 Data Kuantitatif Ekstrak dan Fraksi Daun Benalu Rambutan terhadap Peredaman DPPH	40
Lampiran 4 Kadar total flavonoid ekstrak etanol daun benalu	48
Lampiran 5 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dengan Rata-Rata % Inhibisi Antioksidan	49
Lampiran 6 Instrumen	52



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang Tumbuh pada Inang Rambutan dengan Metode DPPH

**Denda Suli Hartati
Prodi Farmasi**

INTISARI

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang merugikan bagi tubuh karena dapat memicu terjadinya berbagai jenis penyakit seperti kanker, aterosklerosis dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi. Radikal bebas dapat dihambat menggunakan antioksidan, suatu senyawa yang bersifat imunomodulator yang dapat menguatkan sel-sel yang sehat untuk menghadang kerusakan sel. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan terdapat pada tanaman benalu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun benalu menggunakan metode DPPH dan mengetahui kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun benalu. Ekstrak daun benalu diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudiandifraksinasi menggunakan pelarut n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat (30:20), n-heksan:etil asetat (20:30), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (30:20), etil asetat:metanol (20:30) dan metanol 100%. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan penetapan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan kuersetin sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksan: etil asetat (30:20), n-heksan: etil asetat (20:30), etil asetat 100%, etil asetat: metanol (30:20), etil asetat:metanol (20:30) dan metanol 100% memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 8,759; 51,100; 67,091; 7,569; 7,211; 35,814; 66,631 ppm. Aktivitas antioksidan terkuat terdapat pada fraksi etil asetat: metanol (30:20) karena memiliki nilai IC_{50} terkecil yaitu 7,211 ppm sehingga disebut sebagai fraksi teraktif. Kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun benalu yaitu 410,638 mgQE/g ekstrak. Selain itu, hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa daun benalu mengandung senyawa flavonoid dan tanin.

Kata kunci: *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser, antioksidan, flavonoid total, DPPH, IC_{50} .

**Antioxidant Activity in Extract Ethanolic and Fraction of Mistletoe Leaf
(*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) from Rambutan Tree Using DPPH
Method**

**Denda Suli Hartati
Department of Pharmacy**

ABSTRACT

A free radical is a compound that is harmful to the body because it can lead to various diseases such as cancer, atherosclerosis and aging caused by tissue damage due to oxidation. Free radicals can be inhibited using an antioxidant which is an immunomodulator that can strengthen the healthy cells to block cell damage. Flavonoid is a compound that has antioxidant activity and is found in the mistletoe plant. The purposes of this study were to determine antioxidant activity of mistletoe leaf using DPPH method and determine the total flavonoid content of the ethanol extract of mistletoe leaf. Leaf mistletoe extract was obtained by maceration using ethanol 96%, and then fractionated using n-hexane 100%, n-hexane: ethyl acetate (30:20), n-hexane: ethyl acetate (20:30), 100% ethyl acetate, ethyl acetate: methanol (30:20), ethyl acetate: methanol (20:30) and 100% methanol. The results showed the ethanol extract, fractions n-hexane: ethyl acetate (30:20), n-hexane: ethyl acetate (20:30), 100% ethyl acetate, ethyl acetate: methanol (30:20), ethyl acetate: methanol (20:30) and 100% methanol has antioxidant activities with IC_{50} values of 8.759; 51.100; 67.091; 7.569; 7.211; 35.814; 66.631 ppm, respectively. Antioxidant activity of fraction ethyl acetate: methanol (30:20) was called as the most active fraction because it has the smallest value of IC_{50} which was 7,211 ppm. Total flavonoid content of ethanol extract of mistletoe leaf was 410.638 mg QE/g extract. In addition, the qualitative analysis showed the mistletoe leaf contains flavonoid and tannin compound.

Keywords: *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser, antioxidants, total flavonoid, DPPH, IC_{50} .

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan kelompok senyawa kimia aktif dan berbahaya yang mengakibatkan terjadinya kerusakan sel dan jaringan dalam tubuh manusia. Beberapa penyakit yang dapat ditimbulkan akibat adanya radikal bebas seperti kerapuhan sel, penyakit degeneratif, katarak, aterosklerosis bahkan kanker^(1,2). Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar malondialdehid (MDA) dalam plasma. Oleh sebab itu, tubuh kita membutuhkan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya⁽²⁾.

Senyawa antioksidan alami dapat ditemukan pada beberapa jenis tumbuhan, sayur-sayuran, biji-bijian, buah-buahan atau pada kulit buahnya. Indonesia memiliki berbagai macam tanamanyang mengandung antioksidan salah satunya yaitu benalu⁽³⁾. Benalu selama ini dianggap sebagai tanaman parasit yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Secara tradisional benalu digunakan sebagai obat kanker, kencing manis, dan sakit pinggang⁽⁴⁾. Pada tahun 2015, hasil penelitian dari Nirwana dkk tentang fitokimia daun benalu kersen menunjukkan bahwa daun benalu kersen mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, dan saponin⁽⁵⁾. Kandungan kimia benalu sering kali tergantung pada jenis inang tempat tumbuhnya. Menurut Chairul *et al.* (1998) ekstrak batang benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) mengandung alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, glikosida, saponin, steroid dan triterpena sedangkan benalu sawo mengandung flavonoid dan fenolik^(6,7). Jenis inang yang berbeda juga diduga mempengaruhi aktivitas antioksidan senyawanya. Sebuah penelitian menunjukkan ekstrak dari benalu yang tumbuh pada inang belimbing, mangga, kenanga, duku, sirsak, kepel, mahkota dewa, dan teh mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ antara 6,4-51,8 ppm⁽⁸⁾. Ekstrak air dan etanol benalu cengkeh mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 11,4 ppm dan 6,8 ppm⁽⁹⁾.

Salah satu inang benalu yang mudah dijumpai di Indonesia adalah rambutan. Rambutan merupakan salah satu tanaman dengan bagian daunnya mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin⁽¹⁰⁾. Penelitian Anshory dkk (2006) menyatakan bahwa kulit dan biji rambutan memiliki flavonoid total sebesar 244,13 mg/g sampel dan 130,29 mg/g sampel, serta kulit buah rambutan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,62 ppm⁽¹¹⁾. Ekstrak metanol kulit buah rambutan kultivar rapiah mengandung steroid, fenolik dan flavonoid, serta memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH dengan IC₅₀ 0,412 ppm⁽¹²⁾. Berdasarkan hasil beberapa penelitian tersebut, menunjukkan bahwa sebagian besar bagian dari tanaman rambutan memiliki aktivitas antioksidan yang diduga karena adanya senyawa flavonoid. Adanya kandungan senyawa tersebut menjadi latar belakang perlunya dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun benalu yang tumbuh pada inang rambutan, serta penentuan kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun benalu. Jenis inang benalu yang digunakan pada penelitian ini adalah rambutan aceh (*Nephelium lappaceum*). Pada penelitian ini metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan daun benalu yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode ini merupakan metode yang efektif, mudah, dan sederhana⁽¹³⁾. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin baik⁽¹⁴⁾.

1.2. Perumusan Masalah

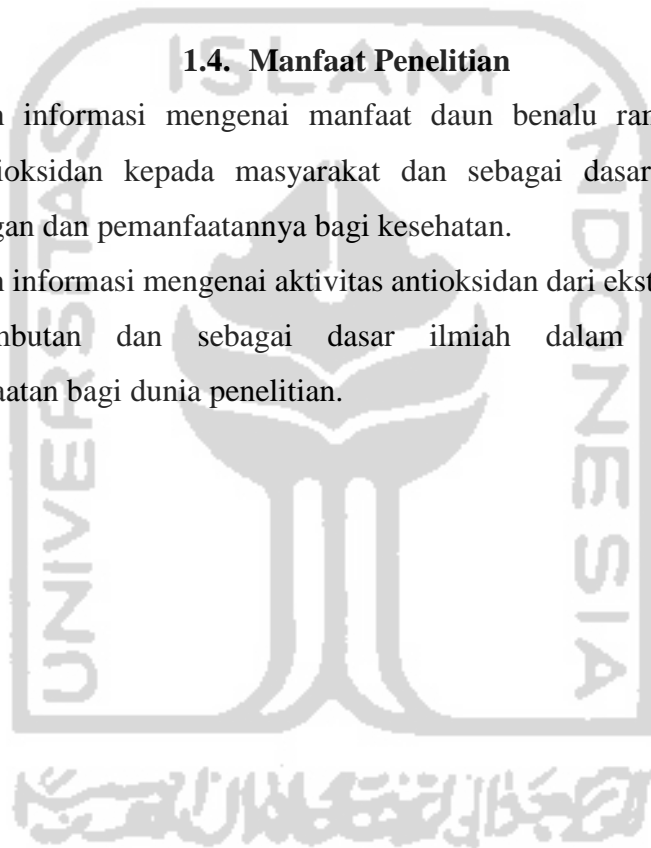
1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada inang rambutan menggunakan metode DPPH?
2. Berapakah kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada inang rambutan?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada inang rambutan menggunakan metode DPPH.
2. Mengetahui kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada inang rambutan.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai manfaat daun benalu rambutan sebagai sumber antioksidan kepada masyarakat dan sebagai dasar ilmiah dalam pengembangan dan pemanfaatannya bagi kesehatan.
2. Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun benalu rambutan dan sebagai dasar ilmiah dalam pengembangan dan pemanfaatan bagi dunia penelitian.



BAB II STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser)

Benalu adalah tanaman setengah parasit karena memiliki zat hijau daun (klorofil). Tanaman ini dapat tumbuh melekat pada cabang atau ranting, dan menghisap makanan dari tanaman lain dengan alat penghisap yang disebut haustorium⁽¹⁵⁾. Tumbuhan ini terdiri dari dua suku yaitu suku *loranthaceae* dan *viscaceae* yang dapat dibedakan berdasarkan morfologi bunga dan buahnya. Loranthaceae mempunyai perhiasan bunga diklamid, buahnya dilapisi oleh lapisan lekat yang terletak diluar ikatan pembuluh, sedangkan viscaceae memiliki perhiasan bunga monoklamid dan buahnya dilapisi oleh lapisan lekat yang terletak didalam ikatan pembuluh. Keluarga loranthaceae terdiri atas 65 genus dan 950 jenis yang sebagian besar tumbuh di kawasan tropis dan sebagian kecil di kawasan beriklim sedang. Ciri-ciri fisik dari genus loranthaceae berbeda-beda, misalnya pada genus *Macrosolen* mahkota bunga terdiri atas 6 daun mahkota dan buah hampir membulat, pada *Dendrophthoe* mahkota bunga terdiri atas 5 daun mahkota dan buah bulat telur lonjong, sedangkan pada *Scurrula* memiliki mahkota bunga yang terdiri atas 4 daun dan buah menyerupai gada⁽¹⁶⁾.

Salah satu contoh tanaman benalu adalah benalu yang tumbuh pada inang rambutan dengan klasifikasi berikut⁽¹⁷⁾:

Kerajaan	:Plantae
Divisi	:Magnoliophyta
Kelas	:Magnoliopsida
Ordo	:Santalales
Famili	:Loranthaceae
Genus	: <i>Scurrula</i>
Spesies	: <i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl.) Denser



Gambar 2.1 Daun benalu rambutan

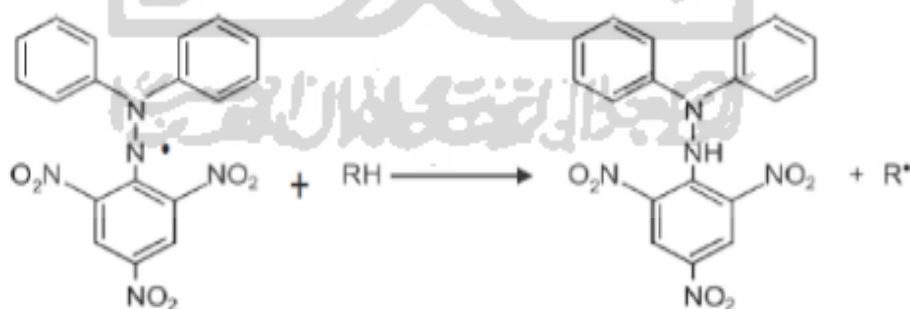
Scurrula atropurpurea (Bl.) Densermemiliki batang muda yang dilapisi rambut-rambut berwarna krem atau abu-abu dan menjadi jarang setelah dewasa. Daun berhadapan, lonjong bundar telur sungsang, panjang 5-10 cm dan lebar 2,5-5 cm, pangkal daun runcing dan ujung tumpul, panjang tangkai daun 6-12 mm, perbungaan pada ruas-ruas, tandan dengan 2-8 bunga. Mahkota bunga ramping, ujung mengganda dan runcing, panjang tabung 7-15 mm. Kepala sari memiliki panjang 1 mm. Penyebaran benalu terdapat di berbagai daerah seperti Jawa, Nusa Tenggara, Maluku bahkan Vietnam dan Filipina. Habitat benalu tumbuh pada ketinggian 0-600 mdpl dan kadang-kadang sampai 2300 mdpl⁽¹⁶⁾.

2.1.2. Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu spesies bebas yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas reaktif. Reaktivitas radikal tergantung pada jenis radikal dan dengan apa radikal tersebut berada. Jika dua radikal bertemu, elektron tidak berpasangan dapat bergabung dan membentuk ikatan kovalen. Jika radikal bebas bertemu dengan suatu spesies non radikal maka sebuah radikal baru akan terbentuk dan terjadilah reaksi berantai⁽¹⁸⁾. Oleh karena itu dibutuhkan suatu antioksidan untuk menstabilkan radikal reaktif menjadi tidak aktif kembali sehingga kerusakan bisa dihentikan.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel bisa dihambat. Antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran dengan cara, memusnahkan dan mencegah pembentukan senyawa oksigen reaktif(SOR) yang dihasilkan oleh proses oksidatif, mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan SOR sehingga pro-oksidan tidak dapat bekerja, memperbaiki sasaran, serta menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan yang baru⁽¹⁹⁾.

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diuji menggunakan beberapa metode, salah satunya yaitu metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Metode ini merupakan metode yang sederhana dengan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil sebagai pendeteksi. Senyawa DPPH adalah radikal bebas stabil berdasarkan delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan menyebabkan DPPH tidak mudah membentuk dimer. DPPH larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 517 nm. Pencampuran radikal DPPH dengan substansi yang mampu menyumbangkan sebuah atom hidrogen akan memunculkan bentuk tereduksi yang ditunjukkan oleh perubahan warna ungu menjadi kuning⁽²⁰⁾.

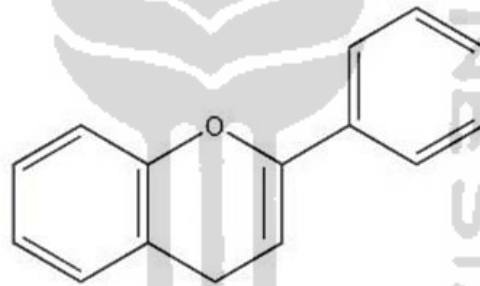


Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004)

Besarnya aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin tinggi nilai IC₅₀ maka kekuatan antioksidan suatu senyawa semakin lemah⁽¹⁴⁾.

2.1.3. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder yang ditemukan pada seluruh bagian tanaman. Struktur kimia flavonoid mengandung cincin aromatik yang tersusun dari 15 atom karbon dengan inti dasar tersusun dalam konjugasi C6-C3-C6⁽²¹⁾. Keberadaan flavonoid dalam tanaman biasanya pada permukaan atau pada sel epidermis daun hijau. Kemungkinan senyawa ini berfungsi untuk melindungi daun dari efek radiasi sinar ultraviolet dan dapat menekan fotoperoksidasi dalam kloroplas. Oleh karena itu, senyawa tersebut diharapkan dapat berfungsi sebagai pelindung dari radiasi sinar ultraviolet pada kulit manusia atau sebagai antioksidan alami. Flavonoid terdapat pada semua bagian utuh antara lain daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, dan daun⁽²²⁾. Flavonoid mempunyai sifat antioksidan karena mengandung gugus hidroksil yang bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas⁽²³⁾.



Gambar 2.3 Struktur Flavonoid (Miller, 1996)

2.1.4. Simplisia⁽²⁵⁾

Simplisia merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum pernah mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, hewani dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2.1.5. Ekstraksi⁽²⁶⁾

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Senyawa aktif dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Jika sudah diketahui senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia tersebut maka akan mempermudah dalam memilih pelarut dan cara cara ekstraksi yang tepat. Beberapa metode ekstraksi yaitu sokletasi, maserasi dan sonikasi. Sokletasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu kontinyu yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berulang dengan jumlah relatif konstan dengan adanya pendinginan.

Maserasi merupakan proses mengekstrak simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Kelebihan maserasi adalah peralatan yang digunakan sederhana, dan efektif untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan panas karena dilakukan pada suhu ruangan, sehingga tidak menyebabkan degradasi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya memakan waktu yang cukup lama dan dapat berlangsung beberapa jam sampai beberapa minggu. Proses maserasi bisa dibantu dengan metode sonikasi yang bertujuan untuk mempercepat proses ekstraksi. Getaran ultrasonik (> 20.000 Hz) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (*cavitation*) sebagai stres dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

2.1.6. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang tergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar,

begitu pula senyawa yang non polar akan masuk ke pelarut non polar⁽²⁷⁾. Metode fraksinasi yang digunakan adalah kromatografi cairvakum(KCV) yang merupakan kromatografi untuk memisahkan golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar, menggunakan silika gel sebagai adsorben dan berbagai perbandingan pelarut serta pompa vakum untuk memudahkan penarikan senyawa yang diinginkan⁽²⁸⁾.

2.1.7. Spektrofotometri UV – Vis⁽²⁹⁾

Prinsip metode ini adalah radiasi pada panjang gelombang 200-700 nm dilewatkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron–elektron pada ikatan dalam molekul menjadi tereksitasi sehingga menjadi keadaan kuantum yang lebih tinggi. Semakin longgar elektron ditahan didalam ikatan molekul maka semakin panjang panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang diserap. Kelebihan metode ini adalah mudah digunakan, murah, dan memberikan presisi yang baik. Kekurangan metode ini adalah selektivitasnya sedang dan tidak mudah diterapkan pada analisis campuran.

2.1.8. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)⁽²⁹⁾

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk analisis kualitatif yaitu uji identifikasi senyawa baku. Untuk meyakinkan identifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan lebih dari satu fase gerak dan jenis pereaksi semprot. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Fase diam yang sering digunakan dapat berupa silika dan serbuk selulosa. Kromatografi lapis tipis mempunyai keuntungan dalam hal pelaksanaannya yang mudah dilakukan dan lebih murah, serta peralatan yang digunakan lebih sederhana.

2.2. Landasan Teori

Radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang dapat mengakibatkan kerusakan sel, penyakit degeneratif, hingga kanker^(1,2). Oleh karena itu dibutuhkan suatu antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas tersebut, sehingga berbagai

penyakit bisa dicegah. Antioksidan dapat berupa antioksidan enzimatis dan non-enzimatis⁽²⁾. Flavonoid adalah salah satu contoh dari antioksidan enzimatis. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung dapat mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas⁽²³⁾.

Menurut beberapa penelitian, benalu positif mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan^(5,6,7,8,9). Secara tradisional benalu digunakan sebagai obat kanker, kencing manis, dan sakit pinggang⁽⁴⁾. Benalu merupakan tanaman parasit yang membutuhkan tumbuhan lain (inang) untuk bertahan hidup dengan menyerap nutrisi pada inang tersebut. Hal ini menyebabkan benalu mengandung sebagian besar senyawa yang sama dengan inangnya. Salah satu inang benalu yang mudah ditemukan adalah pohon rambutan yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan^(10,11,12). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi daun benalu, serta penetapan kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun benalu yang tumbuh pada inang rambutan.

2.3. Hipotesis

Ekstrak etanol dan fraksi daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada inang rambutan memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun benalu rambutan, aquades, etanol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), kuersetin, plat KLT(*merck*), silika gel 60 F₂₅₄(*merck*), n-heksana p.a (*merck*), metanol p.a (*merck*), etil asetat p.a (*merck*), AlCl₃, FeCl₃, dan *Dragendroff*.

3.1.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penyerbuk (*miller*), alat-alat gelas(*pyrex*), timbangan analitik, penyaring *bunchner*, ultrasonikator (*branson*), kertas saring, *rotary evaporator (heidolph)*, spektrofotometer UV-VIS(*shimadzu*), UV *portable*, alat kromatografi kolom vakum (VLC), *chamber (camag)*, dan *waterbath (memmert)*.

3.2. Cara Penelitian

3.2.1. Penyiapan Bahan dan Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan adalah daun benalu rambutan yang diperoleh dari Dusun Setan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.

3.2.2. Pembuatan Simplisia Daun Benalu Rambutan

Daun benalu segar dicuci bersih dan dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 50°C selama 6 jam. Daun benalu kering kemudian dihaluskan menggunakan mesin penghancur serbuk.

3.2.3. Deklorofilasi dan Maserasi

Deklorofilasi atau penghilangan klorofil pada daun dengan metode sokletasi menggunakan pelarut n-heksan. Serbuk kering 175 g disokletasi menggunakan n-heksan secara bertahap. Serbuk kering 30 g dimasukkan ke dalam kantong sampel dan diletakkan pada tabung soklet, kemudian pelarut n-heksan 300 ml dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat sokletasi. Sampel disokletasi hingga minimal tujuh siklus atau sampai pelarut menjadi bening. Proses deklorofilasi terhadap 175 g serbuk dilakukan enam kali dan pada setiap proses menggunakan 30 g serbuk dan 300 ml n-heksan. Hasil deklorofilasi yang berupalarutan dibuang, sedangkan ampasnya digunakan untuk tahap ekstraksi menggunakan metode maserasi. Serbuk daun benalu hasil deklorofilasi sebanyak 175 g, kemudian 100 g serbuk dimaserasi selama 3 hari menggunakan pelarut etanol dan sisanya di simpan. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikentalkan diatas *waterbath*. Ekstrak kental kemudian ditentukan persen rendemen dengan rumus berikut:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk yang dimaserasi}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian diuji golongan senyawa menggunakan KLT dan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, tetapi pada setiap uji tidak mendapatkan hasil. Oleh karena itu serbuk 75 g yang disimpan dimaserasi sebanyak 67,5 g karena terjadi pengurangan bobot selama penyimpanan. Maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan bantuan alat ultrasonikator selama satu jam pada suhu 45°C, lalu disaring. Maserat yang diperoleh dipekatkan dan dikentalkan, kemudian ditentukan persennya dengan rumus diatas seperti diatas.

3.2.4. Fraksinasi

Ekstrak kental 1 g difraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair vakum (KCV). Pada tabung kolom diisi dengan 10 g silika gel F₂₅₄ kemudian dipadatkan. Ekstrak ditambahkan 1 g silika gel kemudian diaduk hingga homogen. Sampel ekstrak yang sudah homogen diletakkan diatas silika gel pada kolom vakum cair dan ditutup dengan kertas saring. Fase gerak dituangkan dengan perbandingan

sebagai berikut: n-heksan 100% (F1), n-heksan:etil asetat(30:20) (F2),n-heksan:etil asetat (20:30) (F3), etilasetat 100% (F4), etil asetat:metanol (30:20) (F5), etil asetat:metanol (20:30) (F6) dan metanol 100% (F7) masing-masing volume50 ml.

3.2.5. Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia

3.2.5.1. Flavonoid

Ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7). Lempeng yang sudah ditotolkan disemprot dengan pereaksi $AlCl_3$ 5%, dидiamkan beberapa saat kemudian dilihat pada sinar tampak dan UV_{366} . Senyawa yang mengandung flavonoid akan mengalami perubahan warna menjadi kuning pada sinar tampak dan fluoresensi kuning hingga hijau pada sinar UV_{366} .

3.2.5.2 Tanin

Ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7). Lempeng yang sudah ditotolkan disemprot dengan pereaksi $FeCl_3$, dидiamkan beberapa saat kemudian dilihat pada sinar tampak. Senyawa yang mengandung tanin akan mengalami perubahan warna menjadi biru dengan latar belakang kuning pada sinar tampak.

3.2.5.3 Alkaloid

Ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7). Lempeng yang sudah ditotolkan disemprot dengan pereaksi *Dragendroff*, dидiamkan beberapa saat kemudian dilihat pada sinar tampak. Perubahan warna coklat jingga pada bercak setelah disemprot *Dragendroff* menunjukkan positif mengandung alkaloid.

3.2.6. Uji Aktivitas Antioksidan

3.2.6.1. Uji Kualitatif Antioksidan

Ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dalam metanol, kemudian ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi dengan eluen n-heksan:etil asetat (3:7). Lempeng yang sudah ditotolkan disemprot dengan larutan uji DPPH untuk menentukan aktivitas antioksidan, lalu didiamkan beberapa saat. Senyawa aktif penangkap radikal bebas menunjukkan bercak warna kuning pucat dengan latar belakang ungu.

3.2.6.2. Uji Kuantitatif Antioksidan dengan Metode DPPH

3.2.6.2.1. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dengan metanol dalam labu 200 ml sehingga diperoleh konsentrasi 50 ppm. Larutan DPPH 50 ppm ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 515 nm. Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara memipet 2 ml larutan ekstrak ditambahkan 2 ml larutan DPPH 50 ppm, didiamkan 30 menit lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH.

3.2.6.2.2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak dan Fraksi, serta Penentuan Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 10 mg ekstrak dan fraksi masing-masing dilarutkan dengan 10 ml metanol p.a dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Seri kadar dibuat konsentrasi 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 ppm, dipipet masing-masing 2 ml kemudian ditambah dengan 2 ml DPPH. Campuran didiamkan selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Blangko yang digunakan adalah campuran metanol dengan DPPH masing-masing 2 ml.

3.2.6.2.3. Pembuatan Larutan Kuersetin Sebagai Pembanding

Pembuatan larutan induk kuersetin 1000 ppm dengan cara ditimbang 10 mg kuersetin dan dilarutkan dalam 10 metanol p.a kemudian dikocok hingga homogen. Larutan induk dipipet 0,1 ml dimasukkan ke dalam labu 10 ml dan dilarutkan metanol hingga batas sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm. Seri kadar dibuat

konsentrasi 1,25; 0,625; 0,313; 0,156; 0,078ppm dengan cara memipet 1,25 ml larutan induk 10 ppm ke dalam labu 10 ml dan dilarutkan metanol hingga batas, sehingga diperoleh konsentrasi 1,25 ppm. Dari larutan 1,25 ppm dipipet 5 ml, dimasukkan dalam labu 10 ml dan ditambahkan metanol hingga batas, sehingga diperoleh konsentrasi 0,625 ppm dan begitu seterusnya hingga konsentrasi terakhir. Masing-masing seri kadar dipipet 2 ml dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH 50 ppm, didiamkan 30 menit dalam ruang gelap kemudian serapan diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH.

3.2.7. Analisis Kuantitatif Flavonoid Total

3.2.7.1.Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Larutan baku dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan metanol sampai 10 ml. Seri kadar konsentrasi larutan kuersetin dalam metanol dibuat dari larutan baku, yaitu dengan konsentrasi: 6,25; 12,5; 25; 50; 100 ppm. Kemudian masing-masing dipipet 0,5 ml dilarutkan 1,5 ml etanol ditambahkan 0,1 ml AlCl_3 10% ditambahkan 0,1 ml potasium asetat 1M ditambahkan 2,8 ml akuades, didiamkan 30 menit diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm. Blangko dibuat sama dengan larutan uji dengan mengganti AlCl_3 10% dengan akuades, kemudian dibuat persamaan regresi antara konsentrasi kuersetin dengan serapan.

3.2.7.2.Penentuan Kandungan Flavonoid Total

Ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm dijadikan konsentrasi 200 ppm. Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dilarutkan 1,5 ml etanol, ditambahkan 0,1 ml AlCl_3 10%, ditambahkan 0,1 ml potasium asetat 1M dan ditambahkan 2,8 ml akuades, didiamkan 30 menit. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 415 nm.

3.3. Analisis Hasil

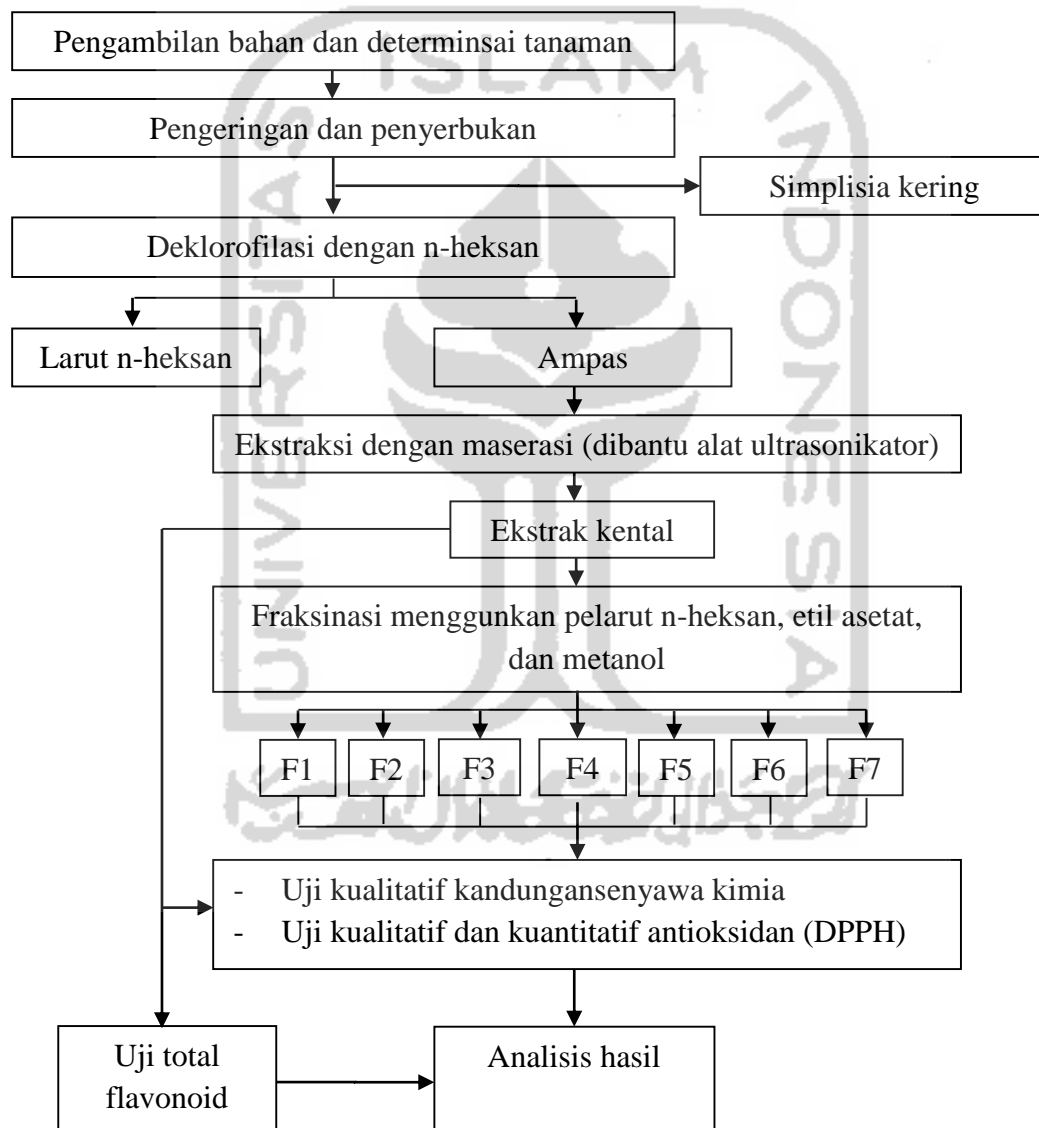
Aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang menunjukkan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk mengikat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan pada rumus persamaan 3.2:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs blanko}} \times 100\% \quad (3.2)$$

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan $y = a + bx$, dimana x adalah konstanta (ppm) dan y adalah persentase inhibisi (%).

Nilai flavonoid total diperoleh dari persamaan: $y = a + bx$, y adalah nilai absorbansi dan a , b adalah konstanta. Kadar yang didapatkan masih dalam *equivalent kuersetin*, kemudian dijadikan mg QE/g ekstrak untuk menentukan nilai total flavonoid sampel.

Skema alur penelitian ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 3.4 Skema penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penyiapan Bahan dan Determinasi Tanaman

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun benalu rambutan yang diperoleh dari Dusun Setan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta. Daun benalu yang digunakan adalah daun yang masih muda, berwarna hijau, dan segar. Langkah awal yang dilakukan adalah pengambilan sampel daun benalu, pada sore hari, kemudian dilakukan determinasi. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Determinasi bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun benalu termasuk family *Loranthaceae*, genus *Scurrula*, dan spesies *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser. Hal ini dibuktikan dengan surat hasil determinasi pada lampiran 1.

4.2. Pembuatan Ekstrak Daun Benalu Rambutan

Daun benalu yang sudah dikeringkan, diserbuk dengan penggilingan untuk memperluas permukaan bahan agar pada tahap ekstraksi, interaksi antara pelarut pengestraksi dan bahan yang diekstraksi menjadi efektif⁽³⁰⁾. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu maserasi dengan pelarut etanol. Sebanyak 100 g serbuk daun benalu dimaserasi menggunakan pelarut etanol dan dihasilkan ekstrak kental yang kemudian di uji golongan senyawa menggunakan KLT dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Pada setiap uji tidak mendapatkan hasil yang diduga karena pelarut tidak bisa mencapai dinding sel akibat dinding sel benalu yang tebal. Oleh karena itu serbuk yang disimpan dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan bantuan alat sonikator untuk memudahkan difusi pelarut ke dalam dinding sel. Ultrasonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk membantu difusi pelarut ke dalam dinding sel tanaman⁽²⁶⁾. Hal ini menyebabkan proses perpindahan masa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat sehingga waktu ekstraksi menjadi lebih singkat⁽²⁶⁾. Etanol dipilih sebagai pelarut karena mampu menarik berbagai senyawa baik polar maupun nonpolar yang terkandung pada tanaman ke

dalam pelarut serta toksisitasnya lebih rendah dibanding metanol⁽²⁶⁾. Maserat hasil ekstraksi bisa dilihat pada gambar 4.1, sedangkan ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 1,4869 g bisa dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.1 Maserat



Gambar 4.2 Ekstrak kental

4.3. Fraksinasi

Ekstrak kental 1 g difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase gerak berupa n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat (30:20), n-heksan:etil asetat (20:30), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (30:20), etil asetat:metanol (20:30) dan metanol 100%. Prinsip metode ini didasarkan pada metode distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur⁽³¹⁾. Fraksinasi dilakukan berdasarkan tingkat kepolaran senyawa mulai dari senyawa yang bersifat non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat) dan polar (metanol). Fraksi yang dihasilkan ada tujuh fraksi yaitu fraksi n-heksan 100%, fraksi n-heksan:etil asetat (30:20), fraksi n-heksan:etil asetat (20:30), fraksi etil asetat 100%, fraksi etil asetat:metanol (30:20), fraksi etil asetat:metanol (20:30) dan fraksi metanol 100%.



Gambar 4.3 Hasil fraksinasi (kiri ke kanan: F1;F2;F3;F4;F5;F6;F7)

Masing-masing fraksi kemudian diuapkan di dalam lemari asam sehingga diperoleh ekstrak kental dari ketujuh fraksi tersebut. Fraksi n-heksan tidak memiliki bobot setelah dikeringkan karena pelarutnya menguap dan hilang. Hal ini diduga karena pada tahap awal terjadi proses deklorofilasi sehingga senyawa yang larut n-heksan sudah terbawa ketika proses tersebut. Persen rendemen terbesar dimiliki oleh fraksi 6 atau fraksi etil asetat: metanol (20:30) yaitu 38,23% yang berarti bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun benalu lebih banyak yang bersifat semi polar. Hasil rendemen masing-masing ekstrak dan fraksi dapat dilihat dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data rendemen ekstrak dan fraksi daun benalu rambutan

Nama ekstrak/fraksi	Bobot ekstrak/fraksi (g)	Rendemen ekstrak/fraksi (%)
Ekstrak etanol 96%	1,487	2,2
Fraksi n-heksan 100% (F1)	-	-
Fraksi n-heksan:etil asetat (30:20) (F2)	0,016	1,6
Fraksi n-heksan:etil asetat (20:30) (F3)	0,049	4,9
Fraksi etil asetat 100% (F4)	0,0997	9,97
Fraksi etil asetat:metanol (30:20) (F5)	0,1725	17,25
Fraksi etil asetat:metanol (20:30) (F6)	0,3823	38,23
Fraksi metanol 100% (F7)	0,1139	11,39

4.4.Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia

Uji kualitatif kandungan senyawa kimiadaun benalu menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Uji ini bertujuan untuk menentukan ada atau tidaknya kandungan senyawa yang terkandung dalam sampel tersebut. Metode ini digunakan karena beberapa kelebihanannya seperti lebih mudah dilakukan dan lebih murah, serta peralatan yang digunakan lebih sederhana. Bercak pada KLT biasanya tidak berwarna sehingga dibutuhkan suatu pereaksi semprot untuk memperjelas bercak yang ada⁽²⁹⁾. Senyawa kimia yang diuji yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin dengan silika gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam dan etil asetat: n-heksan (7:3) sebagai fase gerak. Ekstrak dan fraksi yang sudah dielusi menggunakan fase gerak selanjutnya disemprot menggunakan pereaksi yang sesuai dan dilihat pada sinar tampak dan sinar UV. Beberapa pereaksi yang digunakan yaitu AlCl₃ untuk mengidentifikasi flavonoid, FeCl₃ untuk mengidentifikasi tanin, dan *Dragendroff*

untuk mengidentifikasi alkaloid. Senyawa flavonoid dapat dilihat pada sinar tampak maupun UV₃₆₆, sedangkan senyawa tanin dan alkaloid hanya bisa dilihat pada sinar tampak saja. Hasil uji kualitatif kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada tabel 4.2:

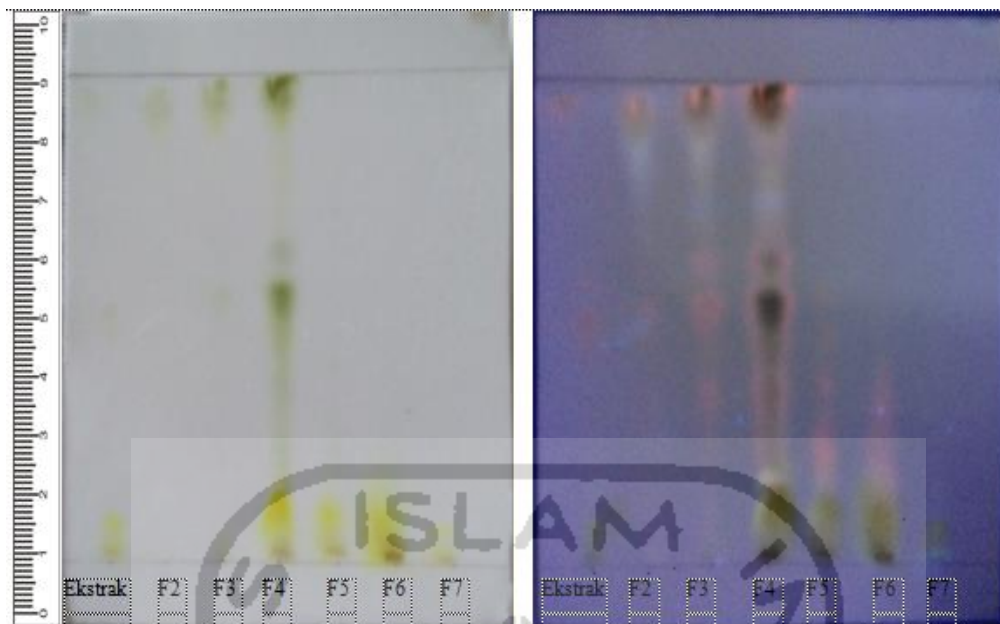
Tabel 4.2 Hasil uji kualitatif kandungan senyawa kimia daun benalu rambutan

Golongan senyawa	Ekstrak	Fraksi 2	Fraksi 3	Fraksi 4	Fraksi 5	Fraksi 6	Fraksi 7
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan tabel 4.2, sampel yang digunakan baik ekstrak maupun fraksi mengandung flavonoid tetapi tidak mengandung alkaloid, sedangkan ekstrak dan fraksi 4, 5, 6, 7 mengandung senyawa kimia tanin. Ekstrak dan fraksi yang mengandung flavonoid diduga dipengaruhi oleh adanya kandungan flavonoid pada inang benalu yaitu rambutan karena sebagian besar bagian dari rambutan mengandung flavonoid^(10,11,12). Senyawa tanin dipengaruhi oleh kelarutannya yang mudah larut dalam alkohol dan praktis tidak larut dalam pelarut non polar seperti benzen, kloroform dan eter sehingga tanin hanya terdeteksi pada pelarut semi polar hingga polar. Hasil uji senyawa alkaloid yaitu negatif diduga karena pada beberapa bagian rambutan yang merupakan inang benalu tidak mengandung alkaloid sehingga pada uji ini senyawa alkaloid tidak terdeteksi. Penelitian ini memperkuat alasan bahwa inang yang berbeda bisa mempengaruhi kandungan senyawa benalunya. Menurut Chairul (1998) ekstrak batang benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) mengandung alkaloid dan flavonoid⁽⁶⁾.

4.4.1. Uji Kualitatif Flavonoid

Penentuan kandungan senyawa kimia flavonoid menggunakan pereaksi AlCl₃ 5%. Hasil uji KLT ekstrak dan fraksi pada sinar tampak dan UV₃₆₆ menunjukkan semua positif mengandung flavonoid setelah disemprot pereaksi AlCl₃. Hal ini dibuktikan karena adanya warna kuning pada sinar tampak dan fluoresensi kuning hingga hijau pada UV₃₆₆ seperti pada gambar 4.4⁽³⁰⁾.



Gambar 1

Gambar 2

Gambar 4.4 Hasil uji kualitatif flavonoid

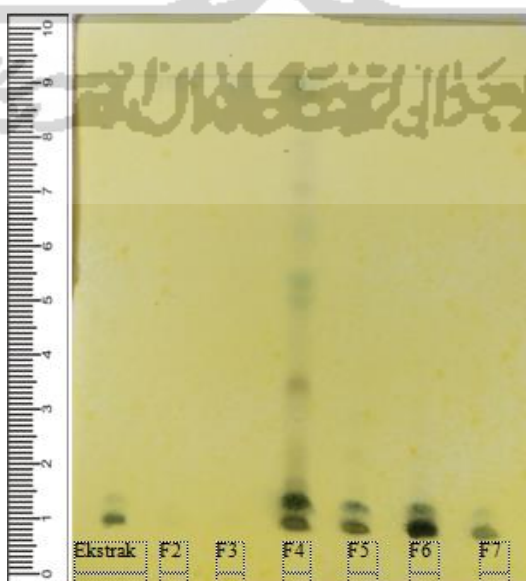
Keterangan gambar:

Gambar 1: Ekstrak dan fraksi setelah disemprot AlCl_3 pada sinar tampak

Gambar 2: Ekstrak dan fraksi setelah disemprot AlCl_3 pada UV_{366}

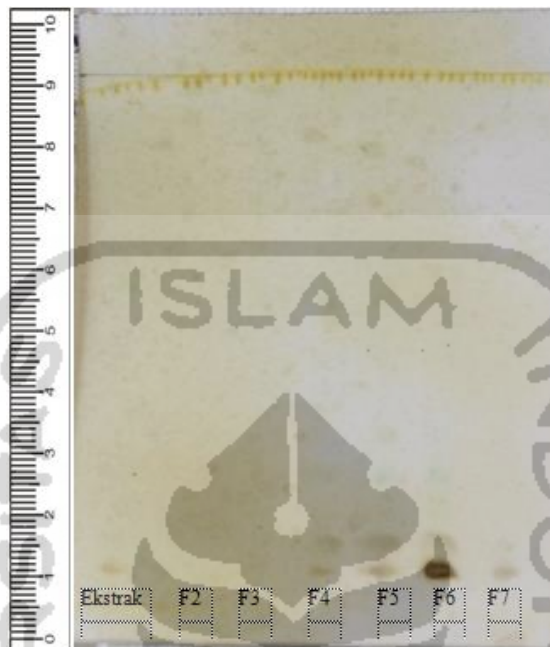
4.4.2. Uji Kualitatif Tanin

Hasil uji kualitatif tanin menyatakan bahwa ekstrak dan fraksi 4, 5, 6, 7 positif mengandung senyawa tanin karena terjadi perubahan warna pada bercak menjadi biru dengan latar belakang kuning setelah disemprot pereaksi FeCl_3 , seperti pada gambar berikut⁽³⁰⁾:

Gambar 4.5 Senyawa tanin pada sinar tampak setelah disemprot FeCl_3

4.4.3. Uji Kualitatif Alkaloid

Hasil penelitian uji kualitatif senyawa alkaloid yaitu negatif dikarenakan tidak terjadi perubahan warna menjadi coklat jingga pada bercak setelah disemprot menggunakan pereaksi *Dragendroff* seperti pada gambar berikut:

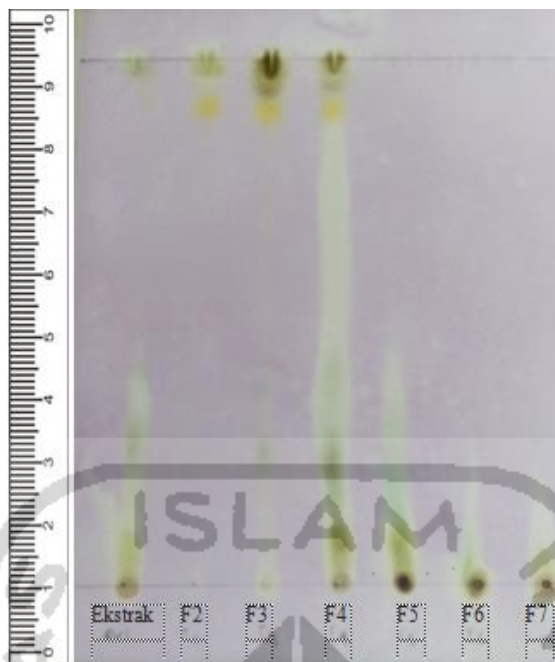


Gambar 4.6 Senyawa alkaloid pada sinar tampak setelah disemprot *Dragendroff*

4.5. Uji Aktivitas Antioksidan

4.5.1. Uji Kualitatif Antioksidan

Uji kualitatif antioksidan dilakukan dengan metode KLT dengan pereaksi semprot menggunakan larutan DPPH. Uji ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak maupun fraksi yang digunakan. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara menyemprot plat KLT untuk uji kualitatif antioksidan menggunakan larutan uji DPPH, dan dilihat pada sinar tampak. Hasil uji kualitatif antioksidan ekstrak dan fraksi pada sinar tampak menunjukkan semua positif memiliki aktivitas antioksidan yang berarti pada ekstrak dan fraksi mengandung komponen senyawa aktif yang berperan dalam menghambat radikal bebas DPPH. Hal ini dibuktikan dengan adanya perubahan warna bercak menjadi berwarna kuning dengan latar belakang ungu pada uji DPPH seperti pada gambar 4.7.



Gambar 4.7 Ekstrak dan fraksi setelah disemprot DPPH pada sinar tampak

4.5.2. Uji Kuantitatif Antioksidan

4.5.2.1. Optimasi Panjang Gelombang DPPH dan Penentuan Operating Time

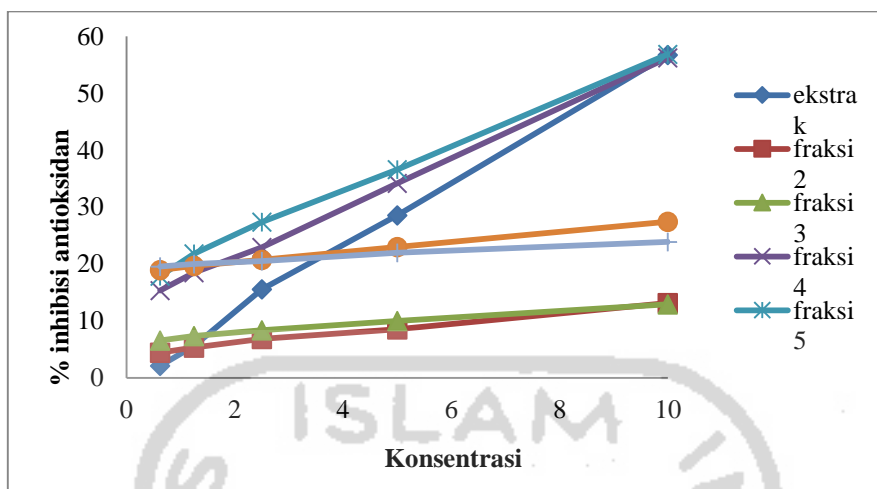
Optimasi ini bertujuan untuk menentukan panjang gelombang absorpsi DPPH maksimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan DPPH 50 ppm adalah 515 nm dan absorbansinya relatif konstan pada menit kedua.

4.5.2.2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH karena efektif dan mudah dilakukan untuk mempelajari profil ekstrak tanaman, serta dapat menunjukkan potensi suatu sampel⁽¹³⁾. Prinsip metode ini yaitu senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogen pada radikal DPPH sehingga menyebabkan DPPH menjadi tereduksi yang bersifat non-radikal. DPPH non-radikal akan kehilangan warna ungunya yang ditunjukkan dengan adanya penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis⁽¹⁴⁾.

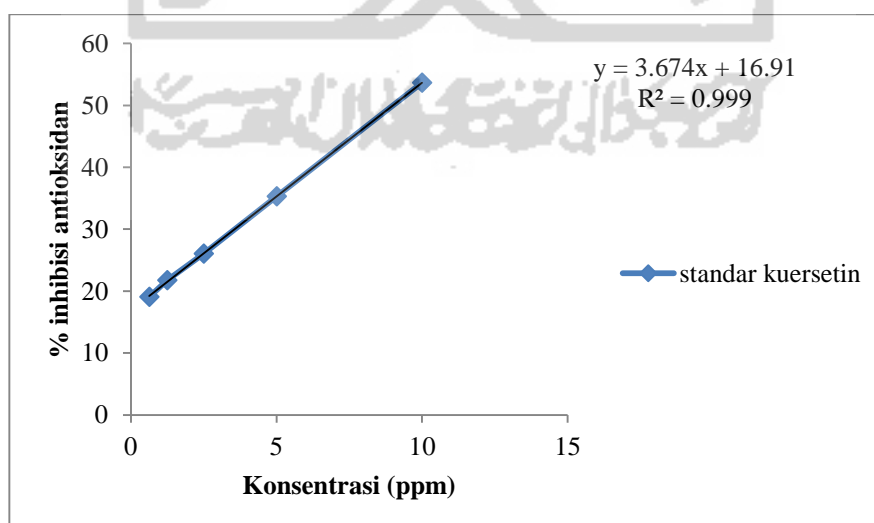
Parameter yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar daya peredamannya⁽¹⁴⁾. Nilai

IC₅₀diperoleh dari grafik persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman DPPH seperti pada gambar 4.8.



Gambar 4.8 Grafik hubungan antara konsentrasi dan persen penghambatan antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun benalu

Grafik diatas menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang digunakan maka aktivitas antioksidan sampel semakin tinggi. Persen penghambatan antioksidan dihasilkan dari rata-rata tiga kali replikasinya. Standar yang digunakan pada penelitian ini adalah kuersetin yang merupakan flavonoid alami dan sudah terbukti sebagai antioksidan. Nilai IC₅₀ kuersetin diperoleh dari persamaan regresi antara konsentrasi kuersetin dan persen peredaman DPPH seperti pada gambar 4.9:



Gambar 4.9 Grafik hubungan antara konsentrasi dan persen penghambatan antioksidan standar kuersetin

Grafik 4.9 menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi kuersetin yang digunakan maka persen penghambatan antioksidan semakin tinggi. Persen penghambatan antioksidan dihasilkan dari rata-rata tiga kali replikasinya. Nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi daun benalu, serta standar kuersetin disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi daun benalu, serta standar kuersetin

Sampel	Persamaan regresi linier	IC_{50} (ppm) rata-rata \pm SD
Ekstrak etanol	$y = 5,79x - 0,701; r^2 = 0,997$	8,759 \pm 0,149
Fraksi 2	$y = 0,898x + 4,195; r^2 = 0,994$	51,100 \pm 2,607
Fraksi 3	$y = 0,657x + 6,512; r^2 = 0,989$	67,091 \pm 9,566
Fraksi 4	$y = 4,348x + 12,60; r^2 = 0,999$	7,569 \pm 0,693
Fraksi 5	$y = 4,065x + 16,36; r^2 = 0,998$	7,211 \pm 0,072
Fraksi 6	$y = 0,893x + 18,52; r^2 = 0,999$	35,814 \pm 4,947
Fraksi 7	$y = 0,460x + 19,42; r^2 = 0,992$	66,631 \pm 3,790
Standar kuersetin	$y = 3.674x + 16.91; r^2 = 0.999$	1,126 \pm 0,018

Hasil penelitian daun benalu rambutan menunjukkan bahwa semua sampel baik ekstrak maupun fraksi memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yang berbeda-beda. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menggambarkan aktivitas antioksidan yang semakin baik⁽¹⁴⁾. Aktivitas antioksidan paling baik dimiliki oleh fraksi 5, kemudian fraksi 4, ekstrak etanol, fraksi 6, fraksi 2, fraksi 7 dan fraksi 3. Nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi teraktif (fraksi 5) berturut-turut yaitu 8,759 dan 7,211 ppm. Hal ini berarti, ekstrak daun benalu bisa menghambat 50% radikal DPPH pada konsentrasi 8,759 ppm, sedangkan fraksi teraktif mampu menghambat 50% radikal DPPH pada konsentrasi 7,211 ppm.

Perbedaan nilai IC_{50} dari semua sampel disebabkan oleh adanya perbedaan senyawa yang terkandung pada masing-masing sampel tersebut. Berdasarkan uji kualitatif, ekstrak dan fraksi 4, 5, 6, 7 mengandung flavonoid dan tanin namun nilai IC_{50} berbeda, hal ini diduga karena jenis dari flavonoid maupun taninnya berbeda pada tiap fraksi tersebut. Berdasarkan hasil KLT senyawa flavonoid juga terdapat pada fraksi 2 dan 3, diduga karena flavonoid merupakan senyawa yang bisa larut di dalam pelarut polar maupun non polar sehingga senyawa ini terdapat pada semua fraksi. Fraksi 5 (etil asetat:metanol (30:20)) memiliki nilai IC_{50} lebih kecil yaitu 7,211 ppm bila dibandingkan dengan IC_{50} ekstrak yaitu 8,759 ppm. Nilai IC_{50} ekstrak yang lebih tinggi diduga disebabkan oleh banyaknya kandungan senyawa di

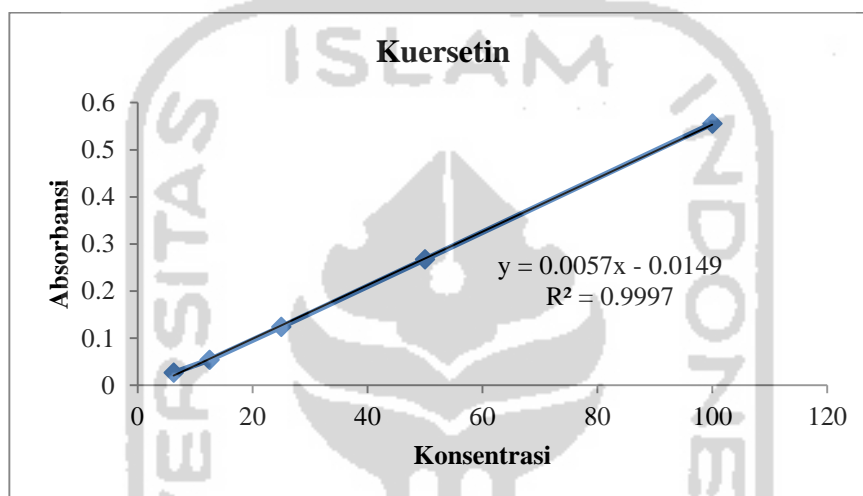
dalam ekstrak sehingga terjadi interaksi antarsenyawa yang bisa mengurangi efek antioksidannya. Nilai IC_{50} fraksi 5 lebih kecil diduga karena senyawa yang terkandung pada fraksi 5 hanya beberapa senyawa dan senyawa tersebut saling bersinergisme sehingga memberikan efek antioksidan yang lebih besar. Fraksi dengan antioksidan paling tinggi menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang memiliki antioksidan bersifat semipolar karena terdapat pada fraksi etil asetat:metanol (30:20). Benalu dari spesies yang sama namun inang yang berbeda memiliki aktivitas antioksidan berbeda. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (B1.) Dans) dari pohon kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd) termasuk sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 13,71 \pm 0,12$ ppm⁽³²⁾. Ekstrak etanol *Scurrulaphilippensis* pada tanaman alpukat (*Persea americana*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 15,357 ppm⁽³³⁾.

Nilai IC_{50} standar kuersetin pada penelitian ini yaitu 1,126 ppm, artinya kuersetin bisa menghambat 50% radikal DPPH pada konsentrasi 1,126 ppm. Nilai IC_{50} kuersetin lebih kecil bila dibandingkan dengan ekstrak maupun fraksi karena kuersetin merupakan senyawa golongan flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang poten. Kuersetin memiliki komponen fenolik yang sangat reaktif yang dapat berperan sebagai donor atom hidrogen pada senyawa radikal bebas, sehingga radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil dan kurang reaktif⁽³⁴⁾. Konsentrasi kuersetin yang digunakan pada penelitian ini adalah delapan kali lebih kecil daripada konsentrasi ekstrak maupun fraksi daun benalu. Berdasarkan tabel 4.3 terlihat bahwa dengan konsentrasi delapan kali kuersetin, nilai IC_{50} kuersetin lebih kecil daripada ekstrak dan fraksi sehingga aktivitas antioksidannya lebih kuat.

4.6. Penetapan Kandungan Flavonoid Total

Senyawa flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya untuk radikal bebas sehingga perlu ditentukan flavonoid total untuk melihat kaitannya dengan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai flavonoid suatu sampel diharapkan aktivitas antioksidannya semakin kuat. Ekstrak etanol daun benalu direaksikan dengan $AlCl_3$ dan potassium asetat sehingga membentuk warna kuning.

Pembentukan kompleks asam yang stabil dengan gugus keton pada C-4 atau gugus hidroksil pada C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol merupakan penyebab terjadinya perubahan warna menjadi kuning⁽³⁵⁾. Standar yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuersetin sehingga penetapan kandungan flavonoid total dinyatakan dalam masa ekuivalen kuersetin. Dari data hasil pengukuran flavonoid total diperoleh persamaan $y=bx-a$, dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan kadar kuersetin. Persamaan $y=bx-a$ dihasilkan dari grafik hubungan antara konsentrasi dan absorbansi kuersetin seperti pada gambar 4.10.



Gambar 4.10. Grafik hubungan antara konsentrasi dan absorbansi kuersetin

Penetapan kandungan flavonoid total dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan $y = 0.005x - 0.014$ ($r^2 = 0.999$; $r = 0.999$) dan hasil analisisnya ditunjukkan sebagai mgQE/g ekstrak. Hasil penetapan kandungan flavonoid total dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa pada ekstrak daun benalu rambutan mengandung senyawa flavonoid total sebesar 410,638 mg QE/g ekstrak. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa dalam 1 gram ekstrak etanol daun benalu setara dengan 410,638 mg kuersetin. Hasil ini memperkirakan bahwa senyawa flavonoid yang terukur merupakan jumlah total flavonoid secara kasar di dalam ekstrak etanol daun benalu. Konsentrasi flavonoid dalam ekstrak tanaman tergantung pada polaritas pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol dan keenam fraksi daun benalu memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut $8,759 \pm 0,149$; $51,100 \pm 2,607$; $67,091 \pm 9,566$; $7,569 \pm 0,693$; $7,211 \pm 0,072$; $35,814 \pm 4,947$ dan $66,631 \pm 3,790$ ppm.
2. Kandungan flavonoid total daun benalu yaitu $410,638 \pm 6,110$ mg QE/g ekstrak.

5.2 SARAN

1. Perlu dilakukan pemurnian fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun benalu dengan metode pemisahan yang sesuai untuk mengetahui senyawa murni yang berperan sebagai antioksidan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai anti kanker karena daun benalu rambutan memiliki aktivitas antioksidan kuat.
3. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan daun benalu rambutan dari varietas lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Youngson, R., 2005, *Antioksidan: Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*, penerjemah Purwoko, S., Juwono, L., Penerbit Arcan, Jakarta.
2. Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
3. Leswara, N.D., dan Katrin, K., Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1998.
4. Pitoyo, S., 1996, *Benalu Hortikultura Pengendalian dan Pemanfaatan*, Trubus Agriwidya, Semarang.
5. Nirwana, A.P., Astirin, A.P., dan Widiyani, T., Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.), *El-VIVO*, 2015;3 (20).
6. Chairul, C., Erlinda, M., Handono, S., Chairul, S.M., Skrining Fitokimia dan Analisis Komponen Kimia Ekstrak Batang Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser), *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 1998;4 (4).
7. Hasanah, M., Tasriyanti, F., Darwis, D., Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu Sawo (*Helixanthere sp*) Hasil Ekstraksi Soxhletasi dan Perkolasi, *Prosiding SNaPP*, Palembang, 2015.
8. Artanti, N., Widayati, R., Fajriahetno, S., Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Air dan Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) yang Tumbuh pada Berbagai Inang, *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 2009;11(1).
9. Fitrilia, T., Ekstrak Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) Sebagai Agen Antioksidan dan Antidiabetes Secara *in Vitro*, [Tesis], Institut Pertanian Bogor, 2015.
10. Ulfah, S., Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn) dengan Metode DPPH, [Skripsi], Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta, 2016.
11. Anshory, H., Suparmi, Tamimy A.S., Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nepheliumlappaceum*L.) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas DPPH, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2006; 3(1).
12. Tjandra, O., Taty, R. R., Zulhipri, *Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih (Nephelium lappaceum)*, Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, 2011, Jakarta.
13. Shalaby, E. A. and Shanab, S. M. M., Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013;7 (10).
14. Molyneux, P., the Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakar J Sci Techno.*, 2014;26 (2).
15. Anonim, 1991, *Panduan Lengkap dari Pembibitan Hingga Pasca Panen Mangga*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
16. Samiran, 2005, *Keanekaragaman Jenis Benalu dan Tumbuhan Inangnya di Kebun Raya Purwodadi Jawa Timur*, Laporan Teknik Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI.
17. Anonim, 2016, Available at <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1127>(diakses 11 Oktober 2016).

18. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.S., 2015, *Free Radical in Biology and Medicine*, 5th Ed., Oxford University Press, Inc, New York.
19. Suhartono, E., dan Setiawan, S., 2006, *Radikal Bebas, Antioksidan dan Penyakit*, Pustaka Banua, Banjarmasin.
20. Alam, Md. N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman, Md., Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013;21.
21. Rahman, A., 2001, *Studies in Natural Products Chemistry: Bioactive Natural Products (Part F)*, 1st Ed., Elsevier Science Ltd, Amsterdam.
22. Harborne, 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua, ITB Press, Bandung.
23. Silalahi, Jansen, 2006, *Makanan Fungsional*, Cetakan ke-1, Kanisius, Yogyakarta.
24. Miller, A.L., Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage, *Alt Med Rev*, 1996;1(2)
25. Anonim, 1995, *Material Medika Indonesia*, Jilid VI, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
26. Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
27. Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo G., Rakes D.D., 2008, Extraction Technologies for Medical and Aromatic Plants, *Trieste: International Centre For Science and High technology*.
28. Hostettmann, K., Marston, A., Hostettmann, M., 1998, *Preparative Chromatography Techniques Applications in Natural Product Isolation*, Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg.
29. Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
30. Harbone, J.B., 1996, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB Press, Bandung.
31. Khopkar, S.M., 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.
32. Sinseng, Y., Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) dari Pohon Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Wild), [Skripsi], Universitas Sanata Dharma, 2016.
33. Devi, A.P., Korelasi Kadar Fenolat Daun *Dendrophthoe petandra*, *Dendrophthoe falcata*, dan *Scurrula philippensis* Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH, [Skripsi], Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2011.
34. Lankhanpal, Parul dan Rai DK, 2007, Quersetin: A Versatile Flavonoid, *Internet Journal of Medicine Update*, 2(2).
35. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York, U.S.A.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi



UNIVERSITAS GADJAH MADA
 FAKULTAS BIOLOGI
 LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
 Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN

Nomer : 0805/ S.Tb. / IV / 2016

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Denda Suli Hartati
 NIM. : 12613190
 Asal instansi : Fakultas MIPA – UII Yogyakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

NO.	FAMILIA	GENUS	SPESES	NAMA DAERAH
1	Loranthaceae	<i>Scurulla</i>	<i>Scurulla atropurpurea</i> (Bl.) Denser	Benalu

identifikasi tersebut dibantu oleh Dr. Purnomo, M.S.

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 18 April 2016

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Biologi
 Universitas Gadjah Mada



Prof. Dr. Suwarno Hadisusanto, S.U.
 NIP. 195411161983031002

Kepala Laboratorium
 Sistematika Tumbuhan
 Fakultas Biologi UGM

Dr. Purnomo, M.S.

NIP. 195504211982031005

Lampiran 2. Perhitungan

1. % Rendemen ekstrak dan fraksi

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak atau fraksi yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

a) Ekstrak

$$\text{Ekstrak etanol} = \frac{1,4869}{67,5} \times 100\% = 2,2 \%$$

b) Fraksi

$$\text{Fraksi 2} = \frac{0,016}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 1,6 \%$$

$$\text{Fraksi 3} = \frac{0,049}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 4,9 \%$$

$$\text{Fraksi 4} = \frac{0,0997}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 9,97\%$$

$$\text{Fraksi 5} = \frac{0,1725}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 17,25\%$$

$$\text{Fraksi 6} = \frac{0,3823}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 38,23\%$$

$$\text{Fraksi 7} = \frac{0,1139}{1 \text{ gram}} \times 100\% = 11,39 \%$$

2. Perhitungan larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat 50 ppm dalam labu 200 ml

$$50 \text{ ppm} = 50 \mu \frac{g}{ml} = \frac{x}{200} ml$$

$$x = 50 \times 200$$

$$x = 10000 \mu g$$

$$x = 10 \text{ mg}$$

DPPH yang ditimbang 10 mg dilarutkan dalam 200 ml metanol p.a dalam labu ukur 200 ml

3. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan uji ekstrak dibuat 1000 ppm dalam labu 10 ml

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \mu \frac{g}{ml} = \frac{x}{10} ml$$

$$x = 1000 \times 10$$

$$x = 10000 \mu g$$

$$x = 10 \mu g$$

Ekstrak yang ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a dalam labu ukur 10 ml

4. Pembuatan seri kadar ekstrak dan fraksi

Seri kadar dibuat konsentrasi 10; 5; 2.5; 1.25; 0.625 ppm dalam labu 10 ml.

$$M1.V1 = M2.V2$$

$$10 \text{ ppm} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \times V1 = 10 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,1 \text{ ml}$$

Larutan ekstrak dan fraksi 1000 ppm diambil 0,1 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$5 \text{ ppm} \rightarrow 10 \text{ ppm} \times V1 = 5 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 10 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$2.5 \text{ ppm} \rightarrow 5 \text{ ppm} \times V1 = 2.5 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 5 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$1.25 \text{ ppm} \rightarrow 2.5 \text{ ppm} \times V1 = 1.25 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 2.5 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$0.625 \text{ ppm} \rightarrow 1.25 \text{ ppm} \times V1 = 0.625 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 1.25 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

5. % Inhibisi ekstrak dan fraksi

Rumus % inhibisi

$$\% \text{ inhibisi ekstrak etanol} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100$$

Blanko sampel
0,588
0,588
0,588
0,588
0,588
Rata-rata blanko sampel = 0,588

a) Ekstrak

Konsentrasi	Absorbansi		
	replikasi 1	replikasi 2	replikasi 3
0.625	0.577	0.575	0.574
1.25	0.555	0.553	0.557
2.5	0.497	0.495	0.497
5	0.418	0.422	0.42
10	0.263	0.252	0.248

Contoh perhitungan

$$\text{Konsentrasi } 0.625 \rightarrow \% \text{ inhibisi ekstrak etanol} = \frac{0,588 - 0,577}{0,588} \times 100 = 1,871\%$$

% Inhibisi Antioksidan		
replikasi 1	replikasi 2	replikasi 3
1.871	2.211	2.381
5.612	5.952	5.272
15.476	15.816	15.476
28.912	28.231	28.571
55.272	57.143	57.823

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = bx + a$ dengan perhitungan secara regresi linier

dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan y adalah persentase inhibisi (%). Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$.

Regresi linier dari % inhibisi replikasi 1 yaitu $y = 5.659x - 0.503$

Nilai IC_{50} ekstrak etanol

$$y = 5.659x - 0.503$$

$$50 = 5.659x - 0.503$$

$$x = 8.924$$

$$\text{IC}_{50} = 8.924 \mu\text{g/ml}$$

Regresi linier dari % inhibisi replikasi 2 yaitu $y = 5.801x - 0.609$

Nilai IC_{50} ekstrak etanol

$$y = 5.801x - 0.609$$

$$50 = 5.801x - 0.609$$

$$x = 8.724$$

$$\text{IC}_{50} = 8.724 \mu\text{g/ml}$$

Regresi linier dari % inhibisi replikasi 3 yaitu $y = 5.908x - 0.992$

Nilai IC_{50} ekstrak etanol

$$y = 5.908x - 0.992$$

$$50 = 5.908x - 0.992$$

$$x = 8.631$$

$$\text{IC}_{50} = 8.631 \mu\text{g/ml}$$

Rata-rata nilai IC_{50} dari ketiga replikasi

$$\text{IC}_{50} \text{ rata-rata} = \frac{8.924 + 8.724 + 8.631}{3} = 8.759 \mu\text{g/ml}$$

6. Perhitungan simpangan deviasi

$$\text{SD} = \text{STDEV} (\text{rata-rata } \text{IC}_{50}) = 0.149$$

$$\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X} \text{ rata-rata } \text{IC}_{50}} \times 100\% = 1.711\%$$

7. Perhitungan total flavonoid

a) Pembuatan AlCl_3 10% dalam labu 100 ml:

$$10 \text{ g}/100 \text{ ml} = x/100 \text{ ml}$$

$$x = 1000/100$$

$$x = 10 \text{ gram (ditimbang dan dilarutkan dalam labu 100 ml)}$$

b) Pembuatan potassium asetat 1M dalam labu 100 ml:

$$\text{Molar} = \frac{\text{massa}}{\text{mr}} + \frac{1000}{v \text{ (ml)}}; \text{ Mr potassium asetat} = 98,15$$

$$1\text{M} = x/\text{mr} \times 1000/10$$

$$1\text{M} = x/98,15 \times 1000/10$$

$$10 \cdot x = 98,15$$

$$x = 9,815 \text{ g}$$

c) Pembuatan larutan standar kuersetin

Kuersetin dibuat 1000 ppm dalam labu 10 ml

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \mu \frac{\text{g}}{\text{ml}} = \frac{x}{10} \text{ ml}$$

$$x = 1000 \times 10$$

$$x = 10000 \mu \text{g}$$

$$x = 10 \text{ mg}$$

Kuersetin yang ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a dalam labu ukur 10 ml

Pembuatan seri kadar kuersetin

Seri kadar dibuat konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25 ppm dalam labu 10 ml.

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100 \text{ ppm} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Larutan ekstrak dan fraksi 1000 ppm diambil 1 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$50 \text{ ppm} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 100 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$25 \text{ ppm} \rightarrow 50 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 50 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$12,5 \text{ ppm} \rightarrow 12,5 \text{ ppm} \times V_1 = 12,5 \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 12,5 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

$$6,25 \text{ ppm} \rightarrow 12,5 \text{ ppm} \times V_1 = 6,25 \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Dari larutan 12,5 ppm diambil 5 ml, dimasukkan labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol p.a hingga batas

d) Pembuatan larutan uji ekstrak etanol

Ekstrak dibuat dalam konsentrasi 200 ppm dari larutan induk 1000 ppm.

Larutan induk ekstrak etanol dengan konsentrasi 1000 ppm dalam labu 10 ml

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \mu \frac{\text{g}}{\text{ml}} = \frac{x}{10} \text{ ml}$$

$$x = 1000 \times 10$$

$$x = 10000 \mu \text{g}$$

$$x = 10 \text{ mg}$$

Ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a dalam labu ukur 10 ml

Larutan uji ekstrak 200 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$1000 \text{ ppm} . V_1 = 200 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

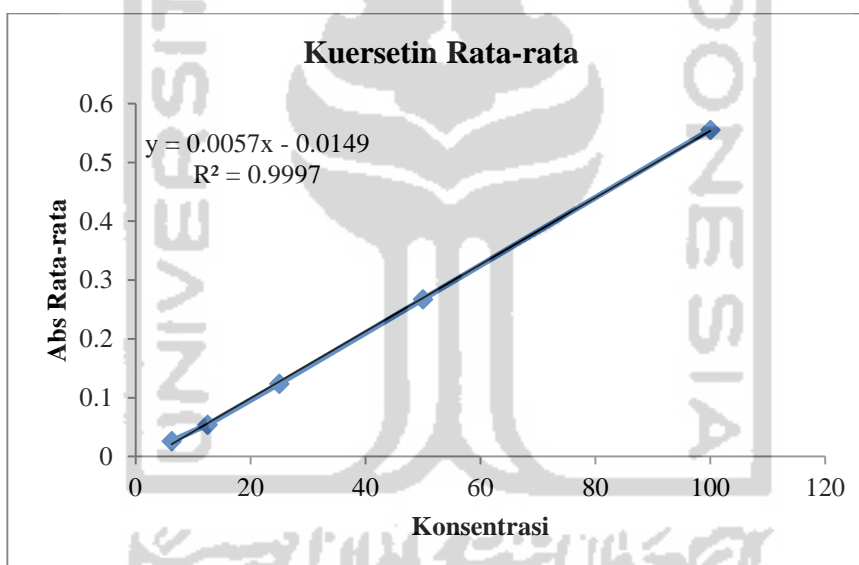
Dari larutan induk 1000 ppm diambil 2 ml dan ditambahkan metanol 10 ml

e) Absorbansi standar kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata
	replikasi 1	replikasi 2	replikasi 3	
6.25	0.025	0.026	0.028	0.026333333
12.5	0.054	0.051	0.057	0.054
25	0.12	0.125	0.127	0.124
50	0.264	0.268	0.27	0.267333333
100	0.556	0.554	0.556	0.555333333

f) Absorbansi ekstrak 3x replikasi

Sampel 200 ppm	Replikasi	Absorbansi
Ekstrak	replikasi 1	0,357
	replikasi 2	0,346
	replikasi 3	0,354



Persamaan regresi kurva standar kuersetin:

$$y = 0,005x - 0,014$$

$$r^2 = 0,999$$

Berdasarkan persamaan tersebut diketahui bahwa x merupakan kandungan flavonoid total larutan uji ekstrak ekuivalen kuersetin dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ekstrak ke y.

Berikut contoh perhitungannya:

$$y = 0,005x - 0,014$$

$$0,357 = 0,005x - 0,014$$

$$x = 68,2 \mu\text{M QE/ml larutan uji (konsentrasi sampel)}$$

Total Flavonoid($\mu\text{mol QE/g ekstrak}$)

= (konsentrasi sampel x volume sampel x faktor pengenceran)/bobot sampel

$$= (68,2 \times 10 \times 20)/10$$

= 1364 $\mu\text{mol QE/g ekstrak}$ (replikasi 1); 1360 QE/g ekstrak (replikasi 2); 1352 QE/g ekstrak (replikasi 3)

Dari ketiga replikasi bisa diperoleh rata-rata total flavonoid sebesar 1358,667 $\mu\text{mol QE/g ekstrak} = 0,001359\text{M}$

SD rerata total flavonoid

$$= \text{STDEV}(\text{rata-rata aktivitas antioksidan})$$

$$= \text{STDEV}(1363 + 1360 + 1352)$$

$$= 6,110$$

CV rerata aktivitas antioksidan = (SD/rata-rata aktivitas antioksidan) x 100%

$$= (6,110/1358,667) \times 100\%$$

$$= 0,449\%$$

Rata-rata total flavonoid(mg QE/g ekstrak)

Mr kuersetin = 302,236

$$\text{Molar} = \frac{\text{Massa}}{mr} + \frac{1000}{v}$$

$$0,001359\text{M} = \frac{\text{Massa}}{302,236} + \frac{1000}{1000}$$

Massa = $0,001359\text{M} \times 302,236 = 0,410638 \text{ gr}$, dijadikan mg
maka dibagi 1000 sehingga menjadi 410,638 mg

Rata-rata total flavonoidekstrak sebesar 410,638 mg QE/gr ekstrak.

Lampiran 3. Data kuantitatif ekstrak dan fraksi daun benalu rambutan terhadap peredaman DPPH

a) Ekstrak Etanol

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.577	0.575	0.574	1.8707483	2.2108844	2.3809524	2.154195011
0.588	1.25	0.555	0.553	0.557	5.6122449	5.952381	5.2721088	5.612244898
0.588	2.5	0.497	0.495	0.497	15.47619	15.816327	15.47619	15.58956916
0.588	5	0.418	0.422	0.42	28.911565	28.231293	28.571429	28.57142857
0.588	10	0.263	0.252	0.248	55.272109	57.142857	57.823129	56.74603175
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				-0.503	-0.609	-0.992	
	b				5.659	5.801	5.908	
	r				0.997998	0.9984989	0.9984989	
	IC ₅₀				8.9243683	8.7241855	8.6310088	
	Rata-rata IC ₅₀				8.759854183			
	SD				0.149897083			
	RSD				1.711182396			

b) Fraksi 2 (n-heksan:etil asetat 30:20)

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.561	0.562	0.562	4.5918367	4.4217687	4.4217687	4.47845805
0.588	1.25	0.554	0.559	0.557	5.7823129	4.9319728	5.2721088	5.328798186
0.588	2.5	0.546	0.549	0.548	7.1428571	6.6326531	6.8027211	6.859410431
0.588	5	0.536	0.539	0.538	8.8435374	8.3333333	8.5034014	8.560090703
0.588	10	0.51	0.514	0.508	13.265306	12.585034	13.605442	13.15192744
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				4.506	4.046	4.032	
	b				0.882	0.86	0.952	
	r				0.9949874	0.9969955	0.9969955	
	IC ₅₀				51.580499	53.434884	48.285714	
	Rata-rata IC ₅₀				51.10036562			
	SD				2.607946015			
	RSD				5.103576037			

c) Fraksi 3 (n-heksan:etil asetat 20:30)

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.549	0.548	0.551	6.6326531	6.8027211	6.292517	6.575963719
0.588	1.25	0.546	0.543	0.545	7.1428571	7.6530612	7.3129252	7.369614512
0.588	2.5	0.539	0.538	0.539	8.3333333	8.5034014	8.3333333	8.390022676
0.588	5	0.529	0.53	0.528	10.034014	9.8639456	10.204082	10.03401361
0.588	10	0.511	0.516	0.509	13.095238	12.244898	13.435374	12.92517007
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				6.398	6.866	6.271	
	b				0.683	0.554	0.734	
	r				0.9964939	0.9909591	0.9989995	
	IC ₅₀				63.838946	77.859206	59.576294	
	Rata-rata IC ₅₀				67.09148196			
	SD				9.565587106			
	RSD				14.25752842			

d) Fraksi 4 (etil asetat 100%)

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.533	0.488	0.48	9.3537415	18.367347	18.367347	15.36281179
0.588	1.25	0.519	0.478	0.459	11.734694	21.938776	21.938776	18.53741497
0.588	2.5	0.487	0.456	0.436	17.176871	25.85034	25.85034	22.95918367
0.588	5	0.407	0.39	0.377	30.782313	35.884354	35.884354	34.18367347
0.588	10	0.276	0.259	0.248	53.061224	57.823129	57.823129	56.23582766
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				13.59	22.57	22.57	
	b				4.35	3.826	3.826	
	r				0.998	0.998	0.998	
	IC ₅₀				8.3701149	7.1693675	7.1693675	
	Rata-rata IC ₅₀				7.569616638			
	SD				0.693251867			
	RSD				9.158348443			

e) **Fraksi 5 (etil asetat:metanol 30:20)**

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.488	0.478	0.482	17.0068	18.70748	18.02721	17.9138322
0.588	1.25	0.465	0.461	0.453	20.91837	21.59864	22.95918	21.82539683
0.588	2.5	0.431	0.421	0.429	26.70068	28.40136	27.04082	27.38095238
0.588	5	0.376	0.359	0.383	36.05442	38.94558	34.86395	36.62131519
0.588	10	0.249	0.265	0.247	57.65306	54.93197	57.9932	56.85941043
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				21.98	24.17	22.96	
	b				3.907	3.541	3.774	
	r				0.998	0.994	0.995	
	IC ₅₀				7.171743	7.29455	7.164812	
	Rata-rata IC ₅₀				7.210368153			
	SD				0.072985564			
	RSD				1.012230751			

f) Fraksi 6 (etil asetat:metanol 20:30)

Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata %inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.478	0.478	0.473	18.70748	18.70748	19.55782	18.99092971
0.588	1.25	0.472	0.474	0.47	19.72789	19.38776	20.06803	19.72789116
0.588	2.5	0.468	0.469	0.461	20.40816	20.2381	21.59864	20.74829932
0.588	5	0.457	0.45	0.451	22.27891	23.46939	23.29932	23.01587302
0.588	10	0.432	0.42	0.428	26.53061	28.57143	27.21088	27.43764172
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				18.4	17.94	19.21	
	b				0.807	1.064	0.807	
	r				0.997497	0.998499	0.997497	
	IC ₅₀				39.15737	30.13158	38.15366	
	Rata-rata IC ₅₀				35.81420248			
	SD				4.946819167			
	RSD				13.812451			

g) Fraksi 7 (metanol 100%)

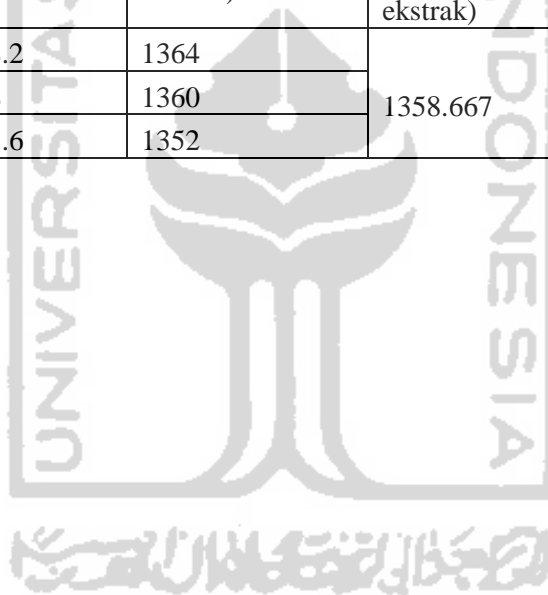
Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata %inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.588	0.625	0.473	0.473	0.472	19.55782	19.55782	19.72789	19.61451247
0.588	1.25	0.471	0.47	0.47	19.89796	20.06803	20.06803	20.01133787
0.588	2.5	0.468	0.469	0.465	20.40816	20.2381	20.91837	20.52154195
0.588	5	0.459	0.459	0.458	21.93878	21.93878	22.10884	21.99546485
0.588	10	0.448	0.446	0.448	23.80952	24.14966	23.80952	23.92290249
Rata-rata blanko sampel = 0.588	a				19.34	19.28	19.65	
	b				0.458	0.49	0.432	
	r				0.994987	0.994485	0.990454	
	IC50				66.94323	62.69388	70.25463	
	Rata-rata IC50				66.63057954			
	SD				3.790060211			
	RSD				5.688169363			

h) Standar Kuersetin

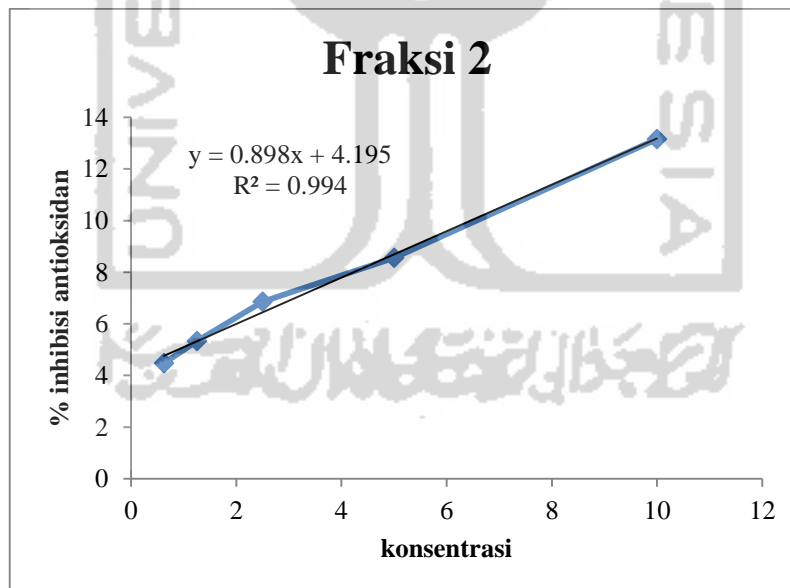
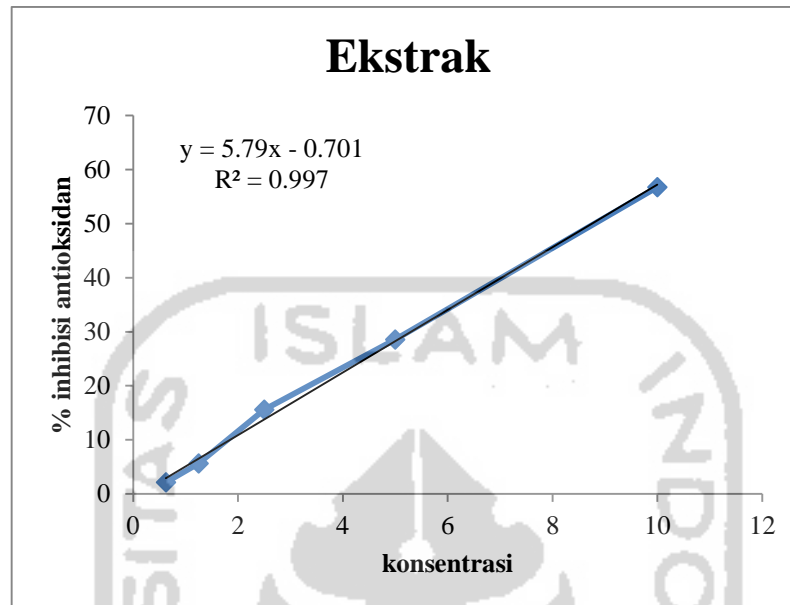
Blanko Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			% Inhibisi Antioksidan			Rata-rata % inhibisi antioksidan
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0.443	0.078	0.36	0.358	0.358	18.73589	19.18736	19.18736	19.03686983
0.443	0.156	0.348	0.344	0.348	21.4447	22.34763	21.4447	21.74567344
0.443	0.313	0.326	0.329	0.328	26.41084	25.73363	25.95937	26.03461249
0.443	0.625	0.285	0.288	0.287	35.66591	34.98871	35.21445	35.2896915
0.443	1.25	0.203	0.205	0.208	54.17607	53.7246	53.0474	53.64936042
Rata-rata blanko sampel = 0.443	a				16.72	17.06	16.96	
	b				30.06	29.17	28.92	
	r				0.9995	0.998999	0.9995	
	IC50				1.107119	1.129242	1.142462	
	Rata-rata IC50				1.126274477			
	SD				0.017857377			
	RSD				1.585526166			

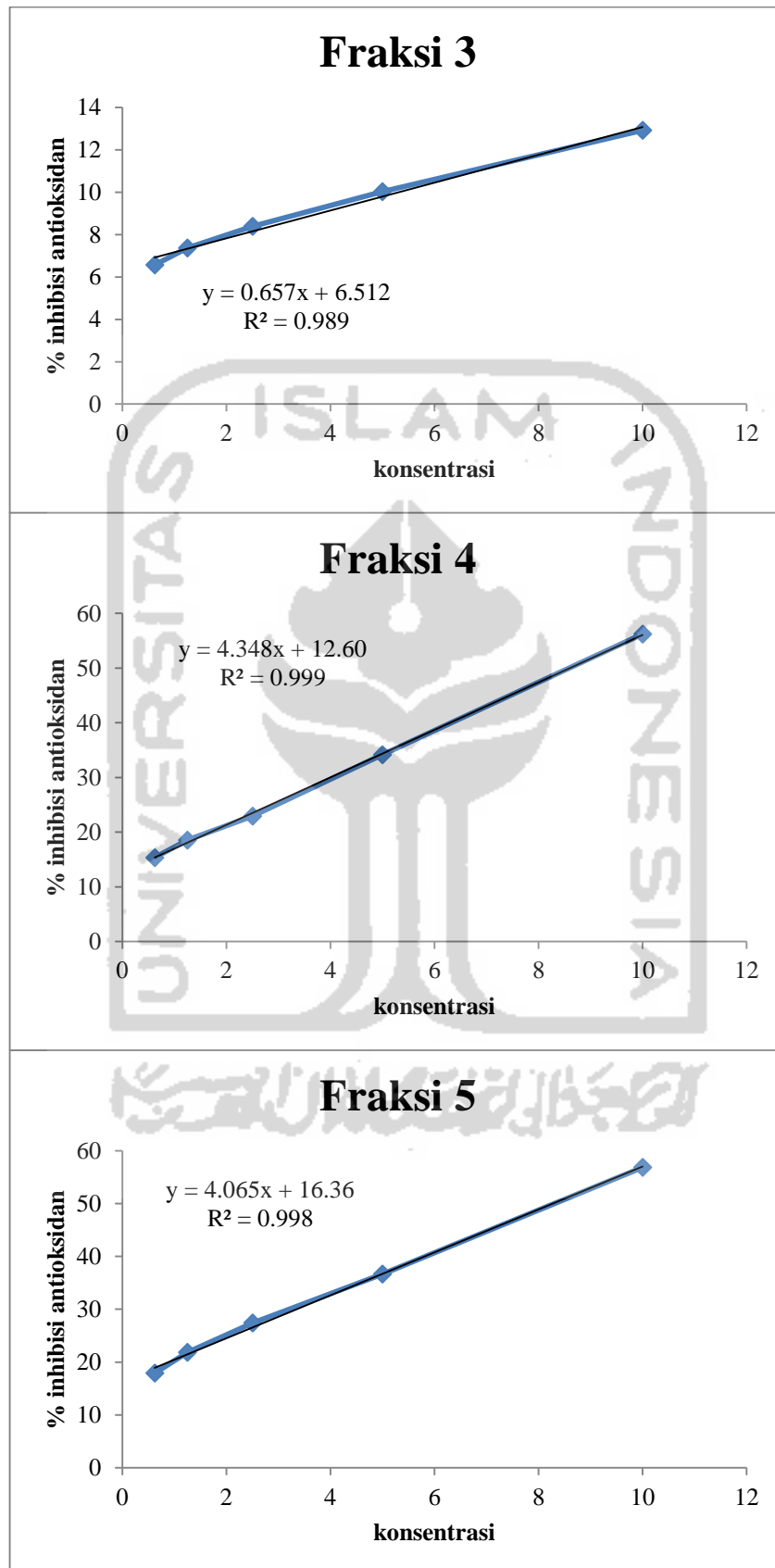
Lampiran 4. Kadar total flavonoid ekstrak etanol daun benalu

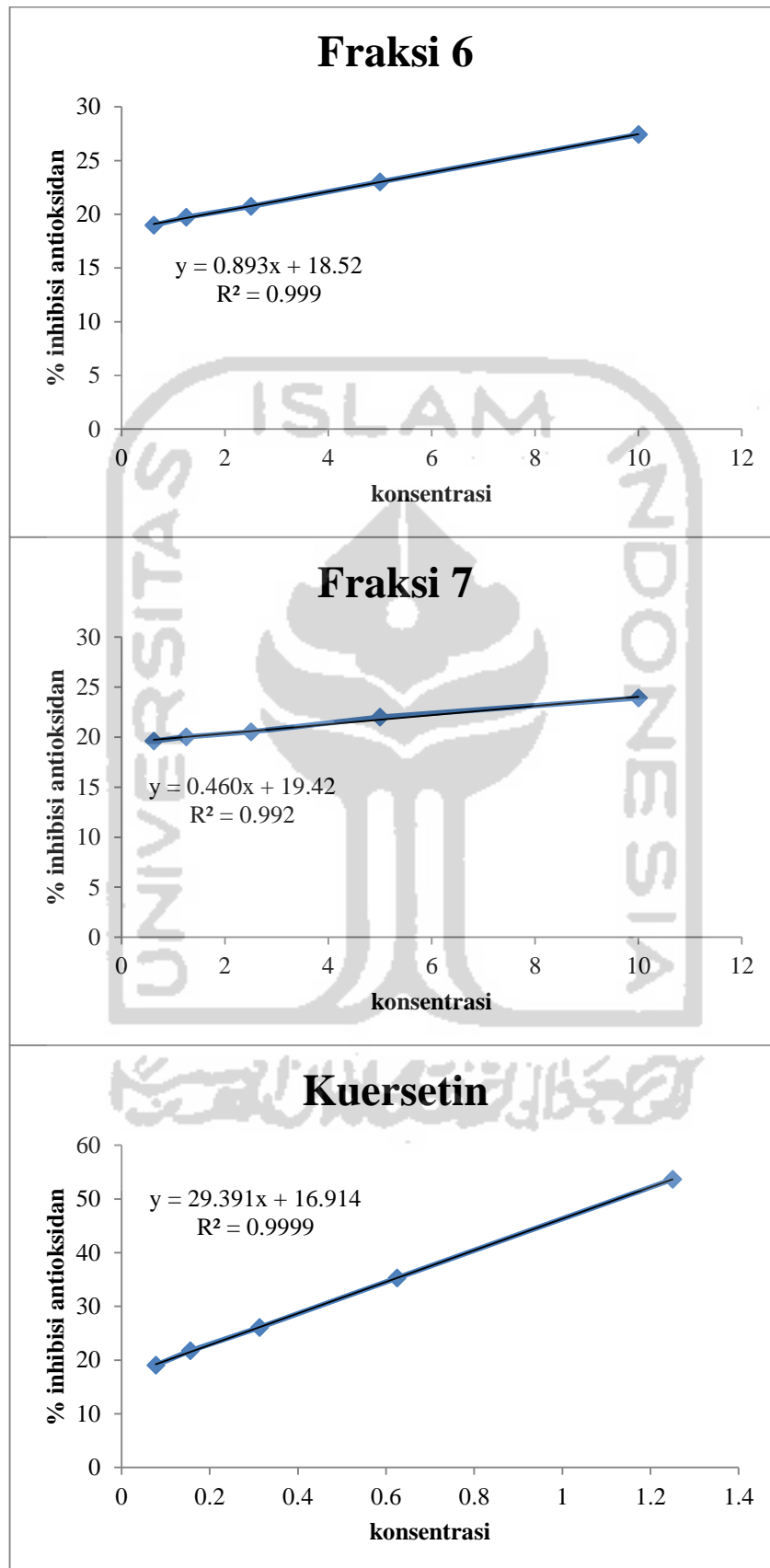
Sampel	Bobot sampel (mg)	Volume sampel (ml)	Fp	Absorbansi sampel (As)	Konsentrasi sampel (μM)	Total Flavonoid (μmol Quercetin Equivalence/g ekstrak)	Rata-rata Total Flavonoid (μmol Quercetin Equivalence/g ekstrak)	SD rerata	CV rerata	Rata-rata Total Flavonoid (mg Quercetin Equivalence/g ekstrak)
K1	10.0	10	20	0.327	68.2	1364	1358.667	6.110101	0.449713	410.638
K2	10.0	10	20	0.326	68	1360				
K3	10.0	10	20	0.324	67.6	1352				



Lampiran 5. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan rata-rata % inhibisi antioksidan







Lampiran 6. Instrumen

1. Spektrofotometer UV-Vis



2. Lemari asam



3. Rotary evaporator



3. Alat sokletasi



5. Waterbath



6. Sonikator

