

LAPORAN TUGAS AKHIR

**PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) Dan EKSTRAK
ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla king*)
MENGUNAKAN METODE DPPH**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh derajat Ahli Madya
Sains (A.Md.Si) Analisis Kimia Program Studi DIII Analisis Kimia**



Disusun Oleh :

Winayu Nurlita Gayatri

NIM : 18231073

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2021

**LAPORAN TUGAS AKHIR
PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) Dan EKSTRAK
ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla king*)
MENGUNAKAN METODE DPPH**

***COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTS OF
MORINGA LEAF (*Moringa oleifera*) and MAHOGANY (*Swietenia
macrophylla king*) SEED EXTRACT WITH ETHANOL USING
DPPH METHOD***



Disusun Oleh :

**Winayu Nurlita Gayatri
NIM : 18231073**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2021

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK

ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) Dan EKSTRAK

ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla king*)

MENGGUNAKAN METODE DPPH

Dipersiapkan dan disusun oleh :

Winayu Nurlita Gayari

NIM : 18231073

Telah Disetujui oleh Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan

Program Studi D III Analisis Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia

Pada tanggal 5 Juli 2021

Menyetujui,

Ketua Program Studi

Pembimbing

Tri Esti Purbaningtias, S.Si.,M.Si
NIK. 132311102

Thorikul Huda, S.Si.,M.Sc
NIK. 052316003

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN TUGAS AKHIR**

**PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) Dan EKSTRAK
ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla king*)
MENGUNAKAN METODE DPPH**

Dipersiapkan dan disusun oleh :

**Winayu Nurlita Gayatri
Nim : 18231073**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 12 Juli 2021

Susunan Tim Penguji

Pembimbing


**Thorikul Huda, S.Si., M.Sc.
NIK. 052316003**

Penguji I


**Puji Kurpiawati, M.Sc.
NIK. 132311103**

Penguji II


**Yuli Rohyami, M.Sc.
NIK. 052316004**

Mengetahui,

Dekan Fakultas MIPA UII




**Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK. 006120101**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir yang berjudul ini tidak terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah di tulis dan di terbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 5 Juli 2021



Winayu Nurlita Gayatri

MOTTO

“ Dan jangan kamu berputus asa dari rahmat Allah, Sesungguhnya yang berputus asa dari rahmat Allah, hanyalah orang- orang yang kafir” (Yusuf [12] : 87)

“ Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” (Al Insirah [94] : 5)



HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim, Assalammualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil'aalamiin, saya panjatkan puji syukur kepada Allah SWT berkat rahmat dan nikmat-Nya sehingga saya dapat menjalankan dan menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

Halaman persembahan ini saya gunakan untuk berterima kasih kepada :

Mama, Kakak dan Adik tercinta yang selalu mengingatkan, mendukung, mendo'akan tiada henti untuk saya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan laporan tugas akhir ini dengan baik. Untuk papa, walau tidak bisa menemani saya dari awal hingga akhir tetapi tugas akhir ini saya persembahkan untuk beliau.

Bapak Thorikul Huda, S.Si., M.Sc. sebagai Dosen Pembimbing saya, Bapak Ibu Dosen dan Staff D III Analisis Kimia UII yang saya banggakan. Terima kasih untuk ilmu, waktu, nasihat, bimbingan, dan pengalaman yang diberikan kepada saya selama 3 tahun menimba ilmu di perkuliahan.

Teman PKL saya, Tenera Alifia yang selalu menemani saat suka ataupun duka, mendukung, memberi semangat dan berjuang bersama selama PKL dan penelitian di laboratorium. Aulia, Faqih, Syifa, dan Kania teman Seperjuangan Penelitian yang selalu mendengarkan keluh kesah saya, memberi semangat tiada henti kepada saya dan membantu berbagai hal selama penelitian.

Teman – teman angkatan Analisis Kimia 2018 yang saya sayangi, terima kasih sudah mendukung, menyemangati, menghibur, membantu saya saat kesulitan dalam mengerjakan tugas akhir, dan terima kasih untuk suka duka canda tawa yang kita lalui selama 3 tahun terakhir.

KATA PENGANTAR

Assalammualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil'aalamiin, Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia- Nya, berkat pertolongan dan izin Allah sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla king*) Menggunakan Metode DPPH dengan baik. Shalawat serta salam tak lupa kita junjungkan kepada Nabi Muhammad SAW. Laporan Tugas Akhir disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Sains (A.Md.Si) III Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Laporan Tugas akhir disusun dengan bantuan berbagai pihak yang telah membimbing, memberikan arahan dan semangat, serta saran selama proses penyusunan laporan, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Ibu Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi DIII Analisis Kimia Universitas Islam Indonesia.
3. Bapak Thorikul Huda, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Tugas Akhir.
4. Dosen dan Karyawan DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Orang tua, saudara, sahabat dan berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu- persatu yang telah banyak membantu dalam proses pelaksanaan dan penyusunan laporan Tugas Akhir.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik serta saran yang membangun sehingga dapat memperbaiki laporan ini menjadi lebih baik. Akhir kata, besar harapan penulis bahwa laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Wassalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 5 Juli 2021

Penulis



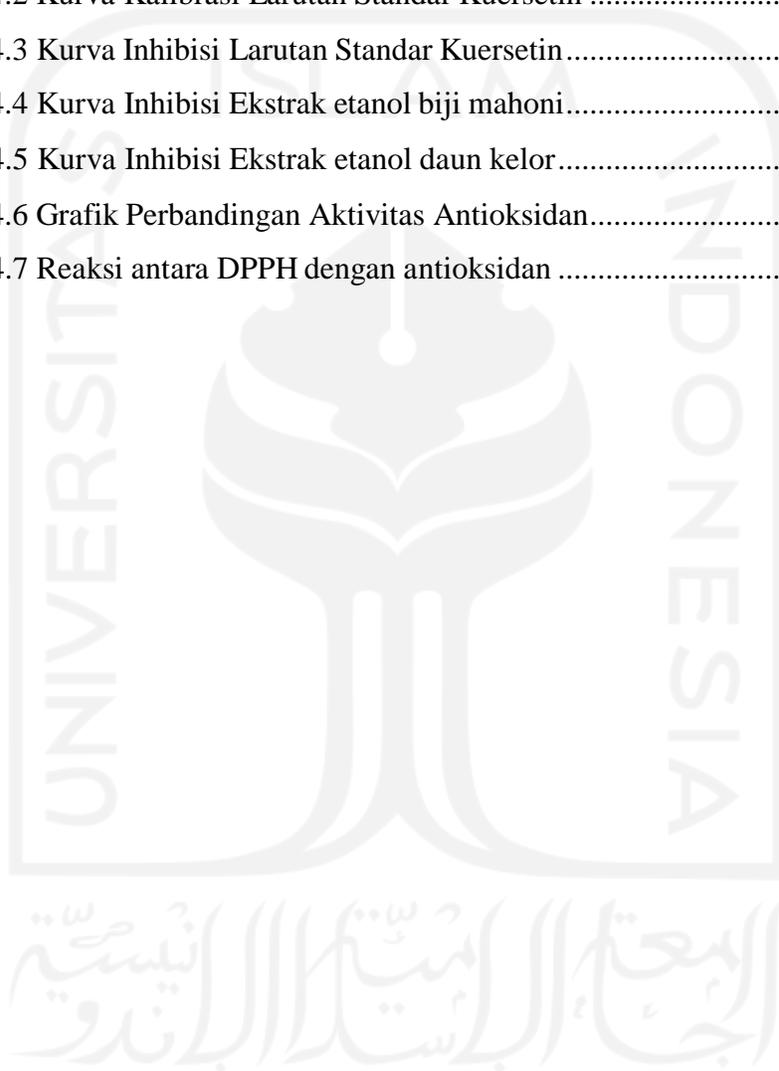
DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB II.....	4
DASAR TEORI.....	4
2.1 Daun Kelor.....	4
2.2 Biji Mahoni.....	5
2.3 Kuersetin.....	6
2.4 Antioksidan.....	7
2.5 Radikal Bebas.....	8
2.6 Metode DPPH.....	9
2.7 Spektrofotometer UV- Vis Double Beam.....	10
2.8 Parameter Uji Aktivitas Antioksidan.....	11
2.8.1 Lineritas.....	11

2.8.2. Presisi	12
2.8.3. Akurasi	12
2.8.4. Konsentrasi Inhibsi (IC ₅₀).....	13
BAB III.....	14
METODOLOGI	14
3.1 Bahan	14
3.2 Alat.....	14
3.3 Prosedur Kerja	14
3.3.1 Preparasi sampel	14
3.3.2 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM	14
3.3.3 Pembuatan Larutan Kuersetin 100 ppm.....	15
3.3.4 Pembuatan Larutan Ekstrak etanol daun kelor 100 ppm	15
3.3.5 Pembuatan Larutan Ekstrak etanol biji mahoni 100 ppm.....	15
3.3.6 Uji aktivitas Antioksidan	15
3.3.7 Penentuan Presisi	16
BAB IV	17
HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Perbandingan Aktivitas Antioksidan	17
4.1.1 Lineritas Kurva Kalibrasi Standar	18
4.1.2 Presisi.....	20
4.1.3 Akurasi.....	21
4.1.4 Konsentrasi Inhibsi (IC ₅₀)	22
4.1.4 Uji Anova.....	26
BAB V.....	28
KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32

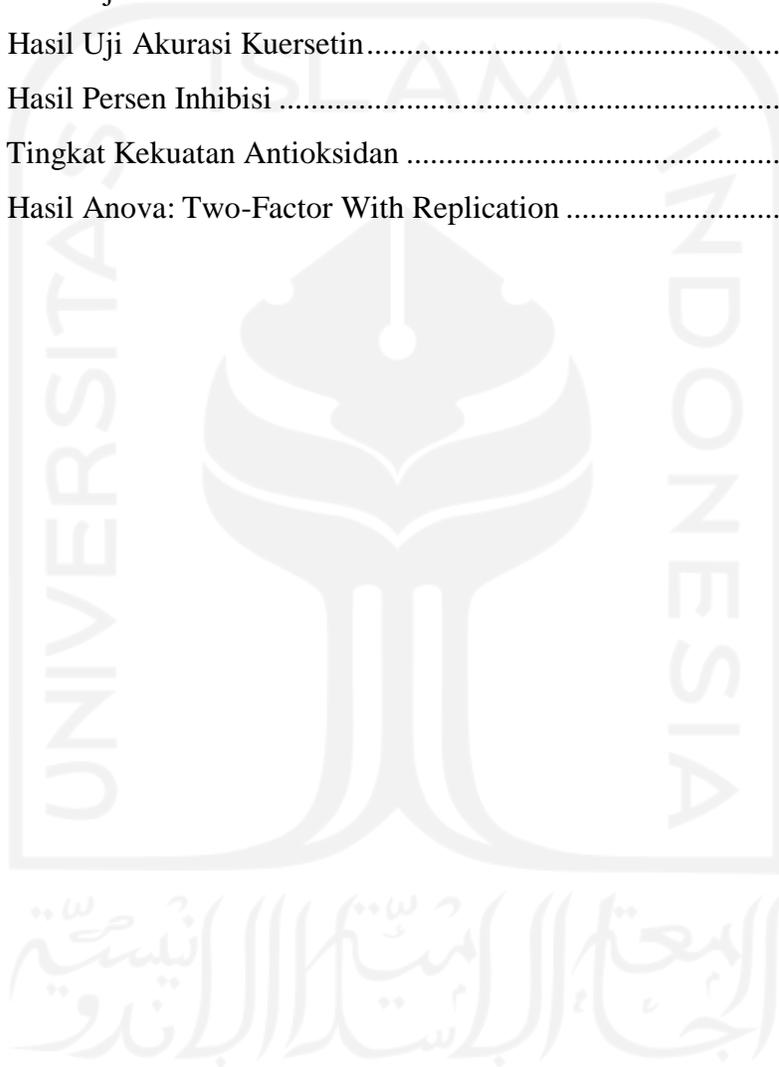
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi DPPH dengan antioksidan	10
Gambar 4.1 Panjang Gelombang DPPH	18
Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin	19
Gambar 4.3 Kurva Inhibisi Larutan Standar Kuersetin	23
Gambar 4.4 Kurva Inhibisi Ekstrak etanol biji mahoni	23
Gambar 4.5 Kurva Inhibisi Ekstrak etanol daun kelor	24
Gambar 4.6 Grafik Perbandingan Aktivitas Antioksidan	25
Gambar 4.7 Reaksi antara DPPH dengan antioksidan	26



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Larutan Standar Kuersetine	19
Tabel 4.2 Hasil Uji Presisi Kuersetin.....	20
Table 4.3 Hasil Uji Akurasi Kuersetin.....	21
Tabel 4.4 Hasil Persen Inhibisi	22
Tabel 4.5 Tingkat Kekuatan Antioksidan	24
Tabel 4.6 Hasil Anova: Two-Factor With Replication	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan % Rendemen	32
Lampiran 2. Pembuatan Larutan Deret Standar dan Sampel	32
Lampiran 3. Penentuan Lineritas Larutan Standar Kuersetin	33
Lampiran 4. Penentuan Persen Inhibisi	34
Lampiran 5. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Standar Kuersetin.....	35
Lampiran 6. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Biji Mahoni	35
Lampiran 7. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Daun Kelor	36
Lampiran 8. Penentuan IC50.....	37
Lampiran 9. Penentuan Presisi	37
Lampiran 10. Penentuan Akurasi	39
Lampiran 11. Penentuan Uji Anova	39



**PERBANDINGAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) Dan EKSTRAK ETANOL BIJI MAHONI
(*Swietenia Macrophylla King*) MENGGUNAKAN METODE DPPH**

Winayu Nurlita Gayatri

Program Studi DIII Analisis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta
Email : 18231073@students.uii.ac.id

INTISARI

Telah dilakukan perbandingan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dengan metode *2,2-diphenyl-1-Picrylhydrazyl* (DPPH). Tujuan penelitian ini, untuk menentukan aktivitas antioksidan mana yang akan bekerja dengan efektif. Radikal bebas DPPH yang tersisa dari proses reduksi oleh antioksidan akan menyebabkan perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning, DPPH akan diukur menggunakan *spektrofotometri UV-Vis double beam* pada λ 517nm. Antikoksidan yang terkandung didalam ekstrak sampel akan dihitung sebagai konsentrasi inhibisi atau sering disebut dengan IC50. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan , diperoleh nilai %rendemen pada masing masing ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni sebesar 38,408% dan 20,356%, koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,997, IC50 sebesar 3,63 ppm pada standar kuersetin, ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni memperoleh nilai linieritas pada kurva inhibisi sebesar 0,7202 dan 0,7093 dengan nilai IC50 masing masing sebesar 6,0 ppm dan 4,3 ppm yang berarti memiliki tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat.

Kata Kunci : ekstrak etanol daun kelor, ekstrak etanol biji mahoni, DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Daun Kelor adalah tanaman hijau yang sering digunakan oleh masyarakat untuk dijadikan bahan pangan dalam kehidupan sehari-hari. Daun kelor banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal untuk mengatasi berbagai macam penyakit seperti anti tumor, anti inflamasi, anti karsinogenik dan juga antioksidan. Uji fitokimia daun kelor menunjukkan bahwa daun kelor mengandung flavonoid, saponin, tannin, steroid, triterpenoid, alkaloid dan anarquinin. Mahoni adalah tanaman yang sering digunakan manusia untuk mengatasi berbagai macam penyakit sebagai obat tradisional. Biji mahoni dapat digunakan secara signifikan untuk pengobatan. Biji mahoni mempunyai kandungan kimia alkaloid, saponin dan flavonoid. Flavonoid ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dapat berpotensi digunakan sebagai antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa pemberi donor electron yang dapat menangkap atau meredam radikal bebas. Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Phaniendra A, 2015) Untuk mencegah terjadinya radikal bebas, diperlukan senyawa antioksidan untuk mentralkan, mengurangi dan menghambat pembentukan radikal bebas baru didalam tubuh dengan menjadi pendonor elektron untuk radikal bebas sehingga menjadi elektron bebas dalam radikal bebas menjadi berpasangan dan menghentikan kerusakan dalam tubuh. Antioksidan alami dalam tubuh berfungsi untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk akibat Polusi udara, zat kimia, dan pembentukan radikal bebas lainnya.

Sumber antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman yang mengandung flavonoid. Flavonoid termasuk kedalam golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, terdistribusi secara luas pada bagian tanaman yaitu pada batang, biji, daun, buah maupun akar. Flavonoid dapat mudah ditemukan pada tumbuh-tumbuhan yang berada di lingkungan sekitar seperti biji mahoni dan daun kelor, tumbuhan tersebut dapat dijadikan obat tradisional untuk menangkal radikal bebas didalam tubuh. Berdasarkan hasil penelitian, kekuatan antioksidan di dalam daun kelor segar memiliki antioksidan 7 kali lebih banyak ketimbang vitamin C.

Flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenolik, salah satu turunan flavonoid adalah kuersetin. Kuersetin dapat digunakan sebagai antioksidan 4 sampai 5 kali lebih tinggi dari pada vitamin C. Ekstrak etanol biji mahoni dan ekstrak etanol daun kelor memiliki potensi yang cukup besar sebagai antioksidan. Diantar ekstrak etanol biji mahoni dan ekstrak etanol daun kelor tanaman mana yang memiliki antioksidan yang lebih tinggi, maka akan dilakukan perbandingan uji antioksidan pada kedua sampel tersebut. Metode yang akan digunakan untuk menentukan antioksidan digunakan metode DPPH dengan menggunakan variasi konsentrasi lebih kecil. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) untuk mengevaluasi kemampuan menangkap radikal bebas dari ekstrak tumbuhan. Menurut (Tukiran, 2020) Aktivitas antioksidan dengan variasi konsentrasi 10 ppm sampai dengan 100 ppm pada ekstrak daun kelor tergolong antioksidan sedang. Ekstrak etanol biji mahoni dapat memberikan aktivitas antioksidan tanpa ada variasi konsentrasi. Kuersetine yang termasuk kedalam turunan flavonoid akan digunakan sebagai standar, karena mampu menghambat radikal bebas. Penangkapan Radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Penggunaan metode DPPH dapat dilakukan dengan sederhana dan mudah, DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517nm dengan warna ungu pekat menggunakan *spektrofotometer UV- Vis double beam*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah yang dapat diambil yaitu :

1. Bagaimana hasil pengujian antioksidan pada kuersetin dengan parameter lineritas, presisi, akurasi dan konsentrasi inhibisi?
2. Bagaimana hasil pengujian dan perbandingan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dengan metode DPPH?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Menentukan hasil pengujian antioksidan pada kuersetin dengan parameter lineritas, presisi, akurasi dan konsentrasi inhibisi.
2. Menentukan hasil pengujian dan perbandingan aktivitas antioksidan yang ada dalam ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dengan metode DPPH.

1.4 Manfaat

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui metode analisis daun kelor dan biji mahoni serta mengetahui seberapa besar kekuatan aktivitas antioksidan pada perbandingan ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni. Hasil dari nilai antioksidan kedua sampel dapat disimpulkan manakah antioksidan yang paling efektif.

BAB II

DASAR TEORI

2.1 Daun Kelor

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) dari famili *Moringaceae* adalah tanaman yang dapat berumur panjang (*perennial*) terdapat di dataran rendah maupun dataran tinggi (± 1000 dpl). Kelor merupakan tanaman yang dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan. Tanaman kelor dapat hidup di berbagai jenis tanah, tidak memerlukan perawatan secara intensif, tahan terhadap musim kemarau sehingga mudah tumbuh bahkan dalam kondisi ekstrim. Tanaman kelor memiliki beberapa julukan, antara lain *Tree for life*, *Amazing tree* dan *Miracle tree*. Julukan ini berasal dari fakta bahwa semua bagian pohon kelor, mulai dari daun, buah, biji, bunga, kulit kayu dan batang hingga akar, memiliki manfaat yang luar biasa.

Kelor merupakan tanaman perdu dengan tinggi batang 7-11 meter. Batang kayu getas (mudah patah), cabang jarang, tetapi mempunyai akar yang kuat. Daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun muda akan memiliki warna hijau muda, setelah dewasa berwarna hijau tua, berbentuk bulat telur, tipis lemas, ujung dan pangkal tumpul (*obtusus*), tepi rata, susunan pertulangan menyirip, permukaan atas dan bawah halus. Daun kelor akan dipanen setelah tanaman tumbuh antara 1,5 sampai 2 meter. Pemanen dilakukan dengan cara memetik batang daun dari cabang atau dengan memotong cabangnya dengan jarak 20 sampai 40 cm di atas tanah.

Fitokimia kelor adalah tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarchinones dan alkaloid, yang merupakan senyawa antioksidan yang memberikan perlindungan signifikan terhadap kerusakan oksidatif. Daun kelor kaya akan antioksidan, dan beberapa senyawa fenolik aktif biologis utama adalah flavonoid, seperti kuersetin dan camphorol. Kuersetin merupakan antioksidan yang sangat kuat, efektivitasnya 4-5 kali lipat dari vitamin C dan vitamin E. Diketahui bahwa kedua zat ini berpotensi sebagai antioksidan (Sutrisno, 2011). Kelor juga mengandung 46

antioksidan kuat lainnya, antara lain: vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K, vitamin B (kolin), vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin), vitamin B6, alanin. α -karoten, arginin, β -karoten, β -sitosterol, kafein asam kuinat, campesterol, karotenoid, klorofil, kromium, delta-5 -Avenasterol, delta-7-Avenasterol, Glutathione, Histidin, Indole, Piruvat, Indole Asetilen, Leuferal, Minstat, Asam Palmitat, Gliadin, Prolin, Kuersetin, Rutin, selenium, rhein, tryptophan, xanthine, lutein, zein, zeaxanthin, zinc (Kurniasih, 2013)

Kelor (*Moringa oleifera*) memiliki manfaat sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dari kelor (*Moringa oleifera*) terutama karena adanya senyawa flavonoid. Flavonoid ditemukan dalam jumlah paling banyak. Flavonoid merupakan tanaman metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid memiliki manfaat untuk tubuh sebagai peningkatan efektivitas vitamin C, melindungi struktur sel, antiinflamasi dan antibiotik.

2.2 Biji Mahoni

Tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni*) dari family *Meliaceae* adalah tanaman yang berasal dari hindia barat, memiliki tinggi 5-25 meter, memiliki akar tunggang, berbatang bulat, banyak cabang dan kayu bergetah. Daun pohon mahoni termasuk daun menyirip genap dapat mencapai panjang 3-15 cm, helaian daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing, tepi daun rata, daun yang masih muda berwarna merah dan lama- kelamaan akan berwarna hijau. Biji mahoni terdapat didalam buah mahoni, buah mahoni berbentuk kotak, bulat telur, berlekuk lima, dan berwarna coklat. Biji Mahoni memiliki bentuk pipih dan berwarna hitam atau cokelat. Tanaman mahoni (*Swietenia macrophylla King*) telah digunakan di Asia dan banyak negara atau wilayah lain untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk efek antibakteri, anti-inflamasi, antioksidan, anti-mutasi, kanker, tumor dan anti-diabetes. Digunakan untuk mengobati berbagai penyakit manusia.

Buah dari tanaman mahoni ini digunakan secara komersial sebagai produk obat untuk meningkatkan sirkulasi darah dan perawatan kulit. Biji mahoni dapat digunakan

secara signifikan untuk pengobatan, biji mahoni secara tradisional digunakan untuk mengobati tekanan darah tinggi, diabetes, dan agen anti-inflamasi. Di Indonesia, biji mahoni digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati diabetes, hipertensi dan malaria. Komposisi kimia mahoni dipengaruhi oleh iklim serta habitat masing-masing mahoni.

Penelitian yang telah dilakukan oleh (Hartati dkk,2013) etanol 100% adalah jenis pelarut ekstraksi yang paling efektif dalam proses ekstraksi. Kandungan fenol pada biji mahoni berfungsi sebagai aktivitas antioksidan. Fenol dan senyawa polifenol seperti flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glikosida (mengandung rantai samping glukosa). Flavon, flavonol, dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoid utama.

2.3 Kuersetin

Kuersetin adalah turunan flavonoid, berasal dari flavonoid yang merupakan antioksidan polifenol alami. Kuersetin adalah glikosida alami dan mudah dihidrolisis. Kuersetin aglikon dibentuk oleh hidrolisis glikosida yang membuat kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sekitar dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan turunan flavonoid yang lain. Kuersetin banyak digunakan dan mudah diekstraksi, dipisahkan, dan diidentifikasi. Biasanya ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan dan dibentuk dalam bentuk glikosida dan polifenol. Flavonoid seperti kuersetin (terutama dalam bentuk glikosida kuersetin) adalah molekul flavonoid yang paling melimpah dan banyak ditemukan pada tumbuhan seperti biji-bijian, kacang-kacangan, bunga, kulit kayu dan daun.

2.4 Antioksidan

Antioksidan secara kimia adalah senyawa pemberi donor (electron donor). Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negative antioksidan. Antioksidan adalah senyawa dengan konsentrasi rendah yang secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi berantai (Halliwell, 2004). Antioksidan dapat melindungi sel dari molekul yang tidak stabil atau radikal bebas. Molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. (Winarti, 2010)

Antioksidan digunakan sebagai tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Didalam tubuh manusia cadangan antioksidan tidak cukup memiliki jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Secara langsung efek yang diberikan oleh antioksidan dalam tubuh, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh, dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan radikal. (Wildman, 2001) Fungsi utama dari antioksidan adalah untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi baik dalam makanan maupun dalam tubuh.

Berbagai jenis tanaman merupakan sumber antioksidan, dan dapat ditemukan dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan segar, berbagai jenis tanaman dan rempah-rempah (Kuncahyo & Sunardi, 2007). Fungsi antioksidan alami antara lain reduktor, pereduksi produksi singlet oksigen, penangkal radikal bebas dan agen pengkhelat logam (Sidik, 1997). Antioksidan alami dibagi menjadi enzim dan vitamin. Antioksidan tumbuhan adalah polifenol atau senyawa fenolik, flavonoid, dan asam sinamat (Madhavi, 1996)

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki electron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), bermuatan negatif (anion) atau tidak bermuatan (netral). Radikal bebas adalah atom, molekul, atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai electron tidak berpasangan, oleh karna itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Tercapainya kestabilan atom atau molekul, radikal bebas bereaksi dengan molekul sekitarnya membentuk pasangan. Elektron yang tidak memiliki pasangan akan berusaha mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak dan DNA) didalam tubuh.

Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan tidak stabil. Molekul oksigen yang stabil sangat penting untuk mempertahankan kehidupan sel. Radikal bebas dalam jumlah tertentu sangat penting untuk kesehatan, tetapi radikal bebas berbahaya dan sangat berbahaya. Tubuh membutuhkan radikal bebas dalam jumlah tertentu untuk melawan peradangan, membunuh bakteri, dan mengatur ketegangan organ dan otot polos pembuluh darah (Giriwijoyo, 2004). Radikal bebas dapat terbentuk ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Kondisi ini menyebabkan mudah sekali terbentuk radikal bebas seperti anion superoksida, dan hidroksil. Proses metabolisme ini, sering kali terjadi kebocoran elektron. Radikal bebas juga dapat dibentuk oleh senyawa lain, senyawa ini bukan radikal bebas, tetapi mudah diubah menjadi radikal bebas, seperti H_2O_2 .

Radikal bebas sangat reaktif. Hal ini terlihat dari sifatnya yang menarik atau menyerang elektron. Radikal bebas juga dapat mengubah molekul menjadi radikal bebas. Kesamaan antara radikal bebas dan oksigen adalah bahwa secara aktif menarik elektron di sekitarnya. Karena karakteristik ini, radikal bebas dianggap sebagai oksidan. Namun, tidak semua oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya daripada oksidan non-radikal. Hal ini disebabkan oleh tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas tersebut, yang kemudian membantu pembentukan radikal

bebas baru. Ketika senyawa radikal bebas baru bertemu dengan molekul lain, molekul baru terbentuk, dan prosesnya berlanjut. Ketika antioksidan kompleks melemahkan reaktivitas, reaksi akan berlanjut dan berhenti. Sumber radikal bebas dapat berasal dari proses metabolisme *in vivo* (endogen) dan *in vitro* (eksogen). Proses metabolisme protein, karbohidrat, lemak, Inflamasi, besi dan logam transisi dalam tubuh termasuk dalam radikal bebas endogen. Radikal bebas eksogen antara lain asap rokok, polusi, radiasi, sinar ultraviolet, obat-obatan, pestisida, limbah industri dan ozon (Wolf, 2002).

2.6 Metode DPPH

Pengujian aktivitas senyawa antioksidan dapat dilakukan dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Senyawa yang mengandung antioksidan direaksikan dengan reagen DPPH akan dikur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis *double beam* (Prakash, 2001) dengan mengamati penurunan absorbansi. Terjadinya penurunan absorbansi disebabkan karena reduksi radikal oleh antioksidan (Yu L, 2002). DPPH adalah radikal bebas nitrogen organik berwarna ungu tua, stabil pada suhu kamar. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Brandwilliams.

Senyawa DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) menerima elektron atau hidrogen untuk membentuk molekul yang stabil. Metode DPPH dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu sampel pelarut nonpolar dan polar. DPPH banyak digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tertentu atau bahan alami untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas. Antioksidan dan DPPH menetralkan sifat radikal bebas DPPH melalui interaksi elektron atau radikal hidrogen pada DPPH. Radikal DPPH adalah senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil, yang memiliki daya serap kuat pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu tua. Reaksi reduksi akan terjadi antara reagen DPPH dan senyawa antioksidan. Senyawa yang mengandung antioksidan mereduksi radikal DPPH.

Vis yaitu, pelarut dapat melarutkan zat organik/anorganik didalam sampel, pelarut tidak dapat menyerap sinar yang digunakan, pelarut tidak bereaksi dengan zat yang didalamnya.

Pengukuran spektrofotometri menggunakan spektrofotometer melibatkan energi elektron yang relatif tinggi dalam molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk analisis kuantitatif daripada kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif. Konsentrasi analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007). Spektrofotometer memiliki berkas ganda, sehingga tidak perlu beralih antara Blanko dan sampel saat mengukur absorbansi (Suhartati, 2013)

2.8 Parameter Uji Aktivitas Antioksidan

2.8.1 Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sebanding dengan konsentrasi analit yang ada dalam sampel pada rentang konsentrasi tertentu. Rentang metode pernyataan batas minimum dan maximum dapat ditetapkan dengan akurasi, presisi dan linieritas yang dapat diterima. Kurva kalibrasi diambil dari sekumpulan larutan standar yang berbeda konsentrasinya (Ermer & Miller, 2005) Linieritas dapat diukur dengan mengukur pada konsentrasi yang berbeda. Absorbansi yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasinya

Linieritas dapat ditentukan dari kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara reaksi dan konsentrasi analit dalam deret larutan standar dan regresi dapat ditentukan dari kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear berupa persamaan $y=bx+a$, dimana x adalah konsentrasi, y adalah respon, a adalah intersep, y yang sebenarnya dan b adalah kemiringan yang sebenarnya. Tujuan dari regresi ini adalah untuk mendapatkan estimasi terbaik dari slope dan intersep y sehingga akan mengurangi residual error, yaitu selisih antara hasil uji dan nilai prediksi persamaan regresi linier

(Harvey, 2000). Koefisien korelasi r digunakan sebagai parameter ada atau tidaknya hubungan linier dalam analisis regresi linier. Ketika b adalah 0 dan r adalah +1 atau -1, tergantung pada arah garis, maka hubungan linier akan dikatakan sempurna.

2.8.2. Presisi

Presisi adalah ukuran keakuratan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran konsentrasi berulang dari larutan yang sama. Hal ini mencerminkan kesalahan acak dalam metode ini. Dua kondisi umum untuk akurasi pengukuran adalah reproduksi atau berulang. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau standar deviasi relatif dari hasil analisis yang diperoleh dari standar kontrol kualitas yang dikembangkan secara independen. Definisi akurasi dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu *repeatability* (Keterulangan) adalah tingkat akurasi yang ditentukan oleh analisis yang menggunakan peralatan di laboratorium yang sama dan dilakukan pada hari yang sama. *Intermediate Precision* (Presisi antara) adalah presisi dalam kondisi eksperimental dimana laboratorium yang digunakan sama dengan menggunakan analisis, peralatan, reagen, dan kolom yang berbeda, dan *reproducibility* (Ketertiruan) adalah akurasi hasil yang dapat diperoleh di laboratorium lain untuk memeriksa apakah metode memberikan hasil yang sama di laboratorium yang berbeda. (Yuwono M, 2005)

2.8.3. Akurasi

Akurasi adalah parameter yang mengukur seberapa dekat hasil pengujian dengan kandungan analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persentase perolehan kembali analit yang ditambahkan. Keakuratan hasil analisis sangat tergantung pada distribusi kesalahan yang sistematis di semua tahap analisis. Akurasi adalah ketepatan analisis metode atau kedekatan antara nilai yang diukur dan nilai yang diterima, dapat berupa nilai konvensional, nilai aktual, atau nilai referensi. Akurasi diukur dengan menambahkan jumlah analit yang diperoleh kembali selama pengukuran sampel. Saat menguji obat, akurasi dicapai dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan acuan standar. Ada tiga cara untuk menentukan keakuratan metode analisis yaitu, membandingkan hasil analisis dengan CRM (*Certified Reference Material*) organisasi

internasional, masukkan analit ke dalam matriks kosong (plasebo dengan radiografi) atau sering disebut uji peroleh kembali dan standar ditambahkan ke matriks sampel yang berisi analit (metode adisi standar).

2.8.4. Konsentrasi Inhibisi (IC₅₀)

Konsentrasi inhibisi atau IC₅₀ sering digunakan untuk menunjukkan aktivitas suatu antioksidan. Konsentrasi inhibisi adalah konsentrasi suatu senyawa antioksidan yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH kehilangan karakter radikal (Windono, 2001). IC₅₀ dapat ditentukan dengan menghitung persen inhibisi. Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Semakin tinggi nilai IC₅₀ semakin lemah aktivitas antioksidannya, begitupun sebaliknya. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin kuat aktivitas antioksidannya.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun kelor diambil dari pohon kelor secara langsung, biji Mahoni diperoleh dari pasar bringharjo, Etanol pro analisis merek dari Merck, Kuersetin merek dari Sigma, *2,2- Difenil-1-Pikrilhidrazil* (DPPH) merek dari Himedia, Kertas Saring diperoleh dari Toko Kimia Progo Mulyo, Plastik warp dan Aluminium foil diperoleh dari Toko Plastik.

3.2 Alat

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometri UV-VIS *Double Beam* Hitachi UH5300 , Neraca Analitik Ohaus, Labu Ukur 5mL, 10mL dan 25mL, Erlenmeyer 250mL, Gelas piala 100mL, Pipet ukur 1 mL dan 5mL, Tabung Reaksi, Kaca arloji, Kuvet, Spatula, Pengaduk Kaca, Cawan Porselin, dan Hot Plate Cimarec Thermo Fisher Scientific.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Preparasi sampel

Sampel dicuci hingga bersih, dikeringkan dibawah matahari dengan ditutupi kain warna hitam. Sampel dihaluskan dengan penghalus sampai menjadi serbuk kemudian diayak, menggunakan pengayak. Proses Maserasi dilakukan selama 7 hari dengan perbandingan sampel dan pelarut 1 : 10. Sampel diambil masing-masing 5 gram dan ditambahkan 50 mL etanol, disimpan dalam botol gelap. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring sampai mendapatkan filter dan residu. Filtrat yang di dapat di panaskan hingga pelarut menguap menggunakan Hot Plate.

3.3.2 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

2,2- Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) ditimbang 1 mg kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25mL ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan dihomogenkan. Labu ukur kemudian di bungkus dengan aluminium foil.

3.3.3 Pembuatan Larutan Kuersetin 100 ppm

Kuersetin ditimbang 0,5 mg dimasukkan kedalam labu ukur 5mL kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas lalu di homogenkan.

3.3.4 Pembuatan Larutan Ekstrak etanol daun kelor 100 ppm

Ekstrak etanol daun kelor ditimbang sebanyak 0,5 mg dimasukkan kedalam labu ukur 5mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

3.3.5 Pembuatan Larutan Ekstrak etanol biji mahoni 100 ppm

Ekstrak etanol biji mahoni ditimbang sebanyak 0,5 mg dimasukkan kedalam labu ukur 5mL kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas lalu dihomogenkan

3.3.6 Uji aktivitas Antioksidan

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,1mM 3mL dimasukkan kedalam kuvet. Ukur serapannya pada panjang gelombang antara 517 nm.

Larutan Pembanding Kuersetine

Larutan pembanding Kuersetine 100 ppm dipipet sebanyak 0,3ml; 0,4mL; 0,5mL; 0,6mL dan 0,7 mL, masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 5mL ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat adalah 6ppm; 8ppm; 10ppm; 12ppm dan 14ppm. Dipipet larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1mL dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2mL masing-masing larutan konsentrasi, lalu di homogenkan. Didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517nm dengan pengulangan 3 kali pembacaan pada setiap konsentrasi.

Ekstrak etanol daun kelor

Larutan Ekstrak etanol daun kelor 100 ppm dipipet sebanyak 0,3ml; 0,4mL; 0,5mL; 0,6mL dan 0,7 mL, masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 5mL ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat

adalah 6ppm; 8ppm; 10ppm; 12ppm dan 14ppm. Dipipet larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1mL dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2mL masing-masing larutan konsentrasi, lalu di homogenkan. Didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517nm dengan pengulangan 3 kali pembacaan pada setiap konsentrasi.

Ekstrak etanol biji mahoni

Larutan Ekstrak etanol biji mahoni 100 ppm dipipet sebanyak 0,3ml; 0,4mL; 0,5mL; 0,6mL dan 0,7 mL, masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 5mL ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat adalah 6ppm; 8ppm; 10ppm; 12ppm dan 14ppm. Dipipet larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1mL dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2mL masing- masing larutan konsentrasi, lalu di homogenkan. Didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517nm dengan pengulangan 3 kali pembacaan pada setiap konsentrasi.

3.3.7 Penentuan Presisi

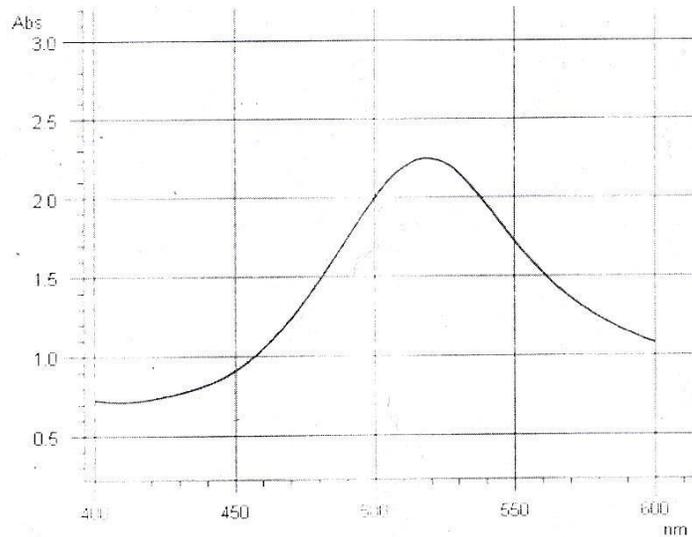
Larutan Kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 2,5mL dimasukkan kedalam labu ukur 25mL ditambah etanol p.a sampai tanda batas. Konsentrasi yang didapat 10 ppm. Presisi dibuat sebanyak 7 kali pengulangan. Setiap tabung reaksi dipipet sebanyak 2 mL kuersetin 10 ppm ditambah 1 mL DPPH. Didiamkan selama 30 menit, diukur pada panjang gelombang 517 nm.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH sering digunakan sebagai metode yang dapat digunakan untuk menentukan suatu potensi antioksidan dalam sebuah sampel yang mengandung flavonoid. Secara sederhana uji aktivitas dilakukan dengan mengekstrak tanaman yang akan digunakan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, dimana pelarut akan berdifusi kedalam dinding sel tanaman yang mengandung senyawa aktif. Sampel akan dihaluskan, dengan tujuan memperbesar luas permukaan dan memperkecil ukuran sampel sehingga proses ekstraksi berjalan efektif. Sampel di maserasi dengan pelarut etanol, perbandingan antara sampel dan pelarut adalah 1 : 10. Rendemen ekstrak kental yang diperoleh dari 5gram sampel kering adalah 38,408 % untuk daun kelor dan 20,356 % untuk biji mahoni. Hasil ekstraksi masing masing sampel diuji aktivitas antioksidannya dengan mengukur serapan radikal DPPH. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH memiliki prinsip radikal bebas DPPH akan menangkap hidrogen dari senyawa antioksidan dengan mengetahui dari perubahan warna yang terjadi yaitu dari warna ungu pekat menjadi kuning. Radikal bebas DPPH yang telah habis bereaksi akan di ukur menggunakan *Spektrofotometer UV- Vis Double Beam* pada panjang gelombang 517 nm.



Gambar 4.1 Panjang Gelombang DPPH

Pengukuran panjang gelombang dilakukan dengan blanko, dimana blanko hanya berisi 3mL DPPH. Panjang gelombang yang terukur pada pengujian ini 517 nm, yang berarti panjang gelombang sudah sesuai dengan literature. Panjang gelombang yang sudah diperoleh akan digunakan untuk menguji standar dan sampel. Perbandingan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 6,00; 8,00; 10,00; 12,00 dan 14,00 ppm.

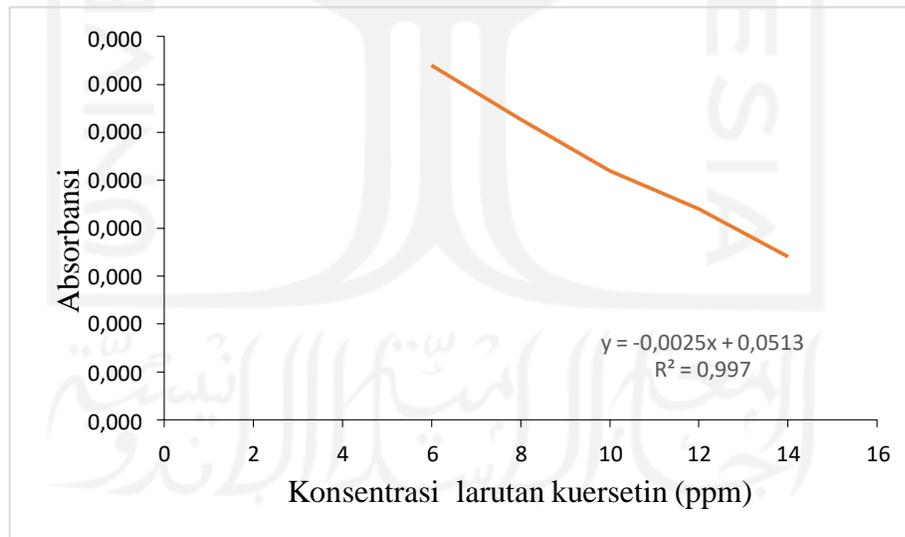
4.1.1 Lineritas Kurva Kalibrasi Standar

Lineritas digunakan pada perbandingan metode ini bertujuan untuk membuktikan bahwa analit standar kuersetin dapat menghambat radikal bebas (DPPH). Uji lineritas dapat ditentukan dengan cara membuat kurva kalibrasi antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansi analit. Konsentrasi larutan standar yang dibuat pada percobaan ini adalah 6,00; 8,00; 10,00; 12,00; dan 14,00 ppm. Pembacaan Absorbansi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Hasil pengujian larutan standar kuersetin menggunakan *spektrofotometer UV- VIS double beam* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Larutan Standar Kuersetine

Konsentrasi Larutan (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rerata
	1	2	3	
6	0,037	0,037	0,037	0,037
8	0,031	0,032	0,031	0,031
10	0,026	0,026	0,026	0,026
12	0,022	0,022	0,022	0,022
14	0,017	0,017	0,017	0,017

Hasil Pengujian Standar menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi larutan standar yang digunakan maka absorbansi dari DPPH akan mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi larutan standar kuersetin dengan DPPH . Koefisien determinasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi dimana sumbu x adalah konsentrasi dan y adalah absorbansi larutan standar memenuhi syarat keberterimaan. Grafik dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.2 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Kurva kalibrasi menunjukkan nilai regresi linier yaitu $y = -0,0025x + 0,0513$. Koefisien determinasi (R^2) yang di peroleh yaitu 0,997 dimana syarat keberterimaan koefisien determinasi yang baik yaitu $\geq 0,997$. Hal ini menunjukkan adanya hubungan

yang linier antara konsentrasi larutan standar kuersetine dengan DPPH. Linieritas dapat dikatakan baik dan memenuhi syarat keberterimaan.

4.1.2 Presisi

Presisi yang dilakukan pada penelitian ini adalah mengulangi pembuatan larutan sebanyak 7 kali dengan konsentrasi larutan dan perlakuan penambahan reagen yang sama kemudian akan dibaca menggunakan spektrofotometer UV- Vis double beam. Presisi digunakan sebagai ukuran kedekatan antara hasil pengukuran satu dengan pengukuran yang lain. Nilai % RSD atau *Relative Standard Deviasion* diperoleh dari nilai simpangan baku (SD) dibagi dengan nilai rata- rata pengulangan dikalikan 100. Syarat Keberterimaan %RSD yang baik <2%, yang berarti semakin kecil nilai presisi maka semakin baik. Pengukuran presisi menggunakan standar kuersetin karena senyawa kuersetin lebih stabil ketimbang ekstrak dari sampel, ekstrak sampel bersifat ekstrak kasar yang kurang stabil. Presisi pengulangan 7 kali dengan konsentrasi larutan kuersetine 10 ppm menghasilkan data sebagai berikut.

Tabel 4.2 Hasil Uji Presisi Kuersetin

Pengulangan	Konsentrasi larutan kuersetin (ppm)
1	12,2973
2	12,2973
3	13,1081
4	13,5135
5	13,3784
6	12,9730
7	12,1622
Rata rata	12,8185
SD	0,5180
%RSD	4,04
%CV Horwitz	10,90
2/3 %CV Horwitz	7,27

Hasil uji presisi yang dapat dilihat pada Tabel 4.2, menunjukkan nilai RSD sebesar 4,04 %. Nilai RSD yang diperoleh harus dibandingkan dengan CV Horwitz karena nilai RSD yang diperoleh lebih dari syarat yang ditentukan yaitu 2%. Nilai CV Horwitz yang diperoleh sebesar 10,90% dengan nilai 2/3 CV Horwitz sebesar 7,27%, hal ini membuktikan bahwa nilai CV Horwitz dan 2/3 CV Horwitz lebih besar dari nilai RSD. Presisi yang telah dilakukan dapat dikatakan baik dan memenuhi syarat keberterimaan.

4.1.3 Akurasi

Akurasi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan derajat kedekatan antara hasil sebenarnya dengan hasil analisis. *Recovery* sering digunakan untuk menyatakan nilai akurasi. Menurut (Affairs, 2014) *Recovery* yang dapat digunakan pada obat untuk manusia antara 70% sampai dengan 130%. Penelitian ini menggunakan standar kuersetin dengan pengulangan 7 kali. Hasil nilai akurasi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel berikut.

Table 4.3 Hasil Uji Akurasi Kuersetin

Pengulangan	Konsentrasi larutan kuersetin (ppm)
1	12,2973
2	12,2973
3	13,1081
4	13,5135
5	13,3784
6	12,9730
7	12,1622
Rata rata	12,8185
% <i>Trueness</i>	128,19

Hasil uji akurasi yang dapat dilihat pada Tabel 4.3, menunjukkan nilai % *trueness* sebesar 128,19%. Nilai % *trueness* diperoleh dari nilai rata-rata pengulangan dibandingkan dengan nilai sebenarnya. Yang mana, nilai sebenarnya yang digunakan pada pengujian akurasi menggunakan standar kuersetin 10 ppm. Nilai %*trueness* yang diperoleh masih masuk dalam syarat keberterimaan yang telah ditetapkan. Akurasi dapat dikatakan baik dan memenuhi syarat keberterimaan.

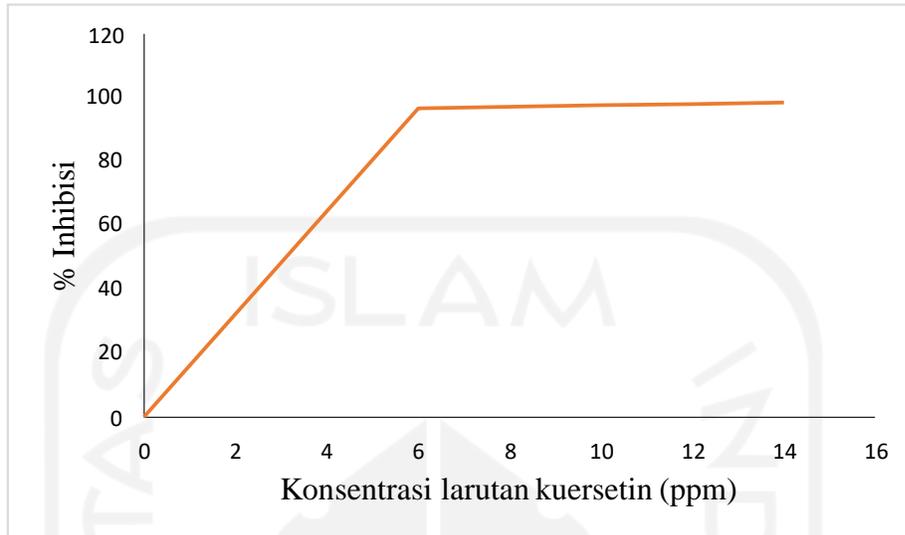
4.1.4 Konsentrasi Inhibisi (IC₅₀)

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kelor dan biji mahoni dengan menggunakan 5 variasi konsentrasi setiap sampel yaitu 6,00; 8,00; 10,00; 12,00 dan 14,00 ppm yang diukur pada panjang gelombang 517 nm. Hasil persen inhibisi dari standar kuersetin dan sampel dapat dilihat dalam Tabel 4.3

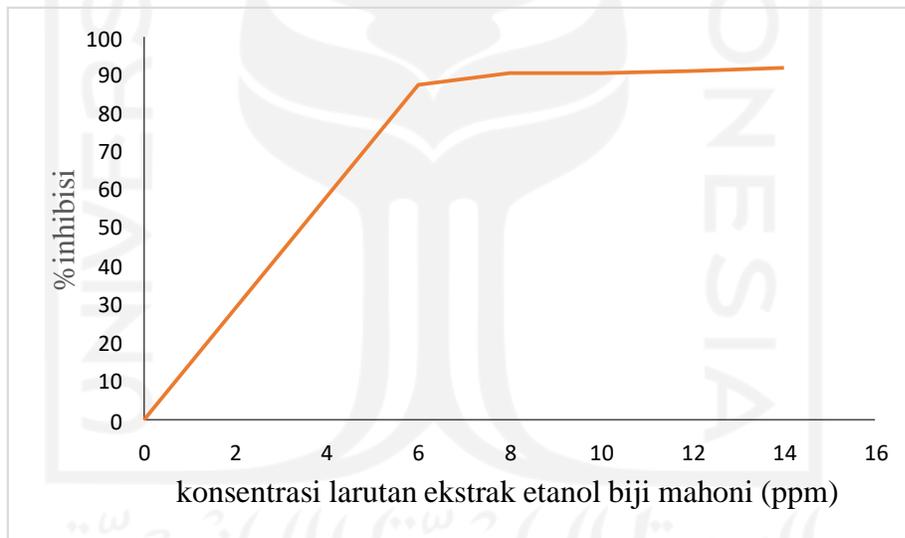
Tabel 4.4 Hasil Persen Inhibisi

Konsentrasi larutan (ppm)	% I Kuersetin	% I Biji Mahoni	%I Kelor
0	0	0	0
6	96,74	87,40	72,25
8	97,24	90,48	73,57
10	97,71	90,57	73,92
12	98,06	91,13	74,51
14	98,50	91,86	77,00

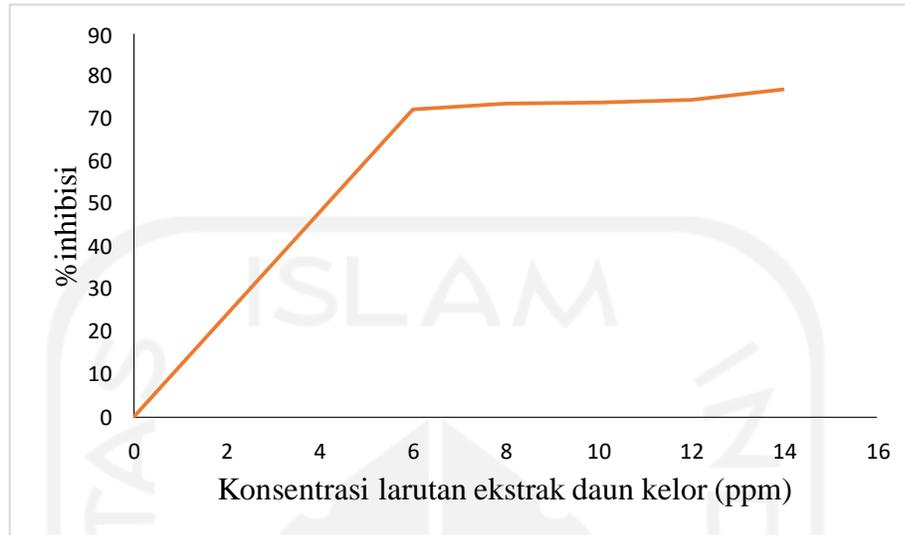
Persen inhibisi diperoleh dari selisih absorbansi blanko dengan absorbansi sampel. Semakin besarnya nilai konsentrasi ekstrak sampel, maka nilai absorbansi akan semakin kecil dan berbanding terbalik dengan nilai inhibisi yang semakin besar. Persen inhibisi dihitung untuk menentukan persentasi hambatan dari ekstrak sampel terhadap radikal bebas DPPH. Konsentrasi larutan standar kuersetin, ekstrak etanol biji mahoni dan daun ekstrak kelor dengan persen inhibisi (%I) dibuat kurva hasil uji antioksidan. Kurva dapat dilihat pada Gambar 4.2 sampai Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Kurva Inhibisi Larutan Standar Kuersetin



Gambar 4.4 Kurva Inhibisi Ekstrak etanol biji mahoni



Gambar 4.5 Kurva Inhibisi Ekstrak etanol daun kelor

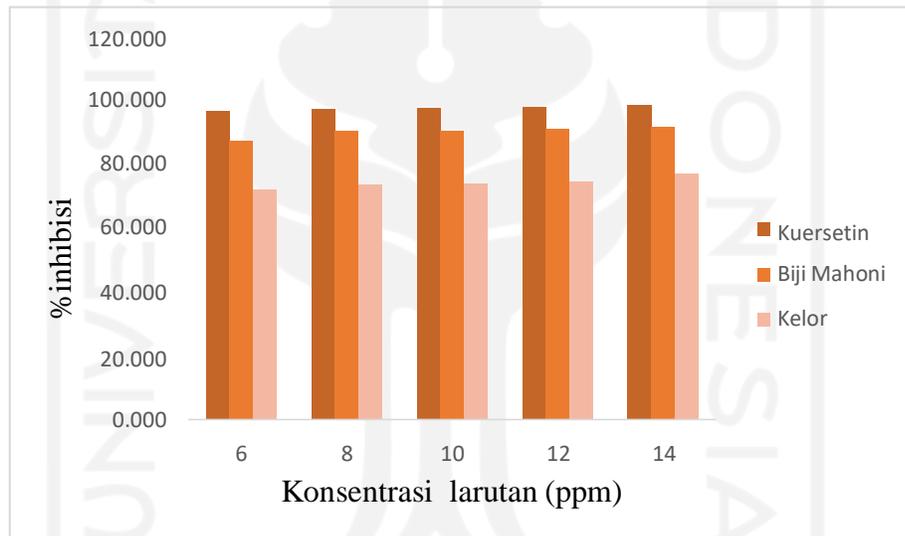
Berdasarkan kurva persen inhibisi yang telah dibuat, didapatkan regresi linier dalam setiap kurva. Persamaan regresi tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi inhibisi. Konsentrasi inhibisi atau IC_{50} digunakan untuk mengetahui seberapa besar konsentrasi larutan senyawa yang mengandung antioksidan untuk dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} semakin kecil menandakan bahwa senyawa antioksidan didalam sampel tersebut sangat kuat, dan sebaliknya. Semakin besar nilai IC_{50} maka antioksidan didalam sampel tersebut lemah. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Tingkat Kekuatan Antioksidan (Syarif R A, 2008)

Nilai IC_{50}	Intensitas Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 250 ppm	Sendang
250 ppm – 500 ppm	Lemah

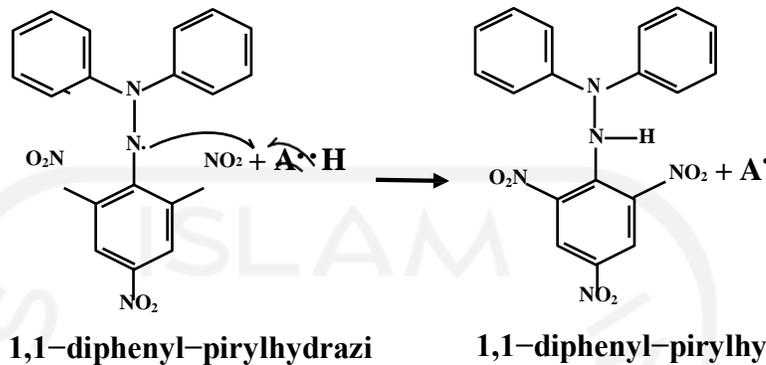
Persamaan regresi yang diperoleh dari kurva inhibisi larutan standar kuersetin dengan persen inhibisi yaitu $y = 6,668x + 25,805$. Sedangkan hasil regresi untuk ekstrak

etanol biji mahoni $y = 6.256x + 23.109$ dan $y = 5.1864x + 18.655$ untuk ekstrak etanol daun kelor. Persamaan regresi tersebut dapat menentukan konsentrasi inhibisi. Konsentrasi inhibisi untuk standar kuersetin sebesar 3,63ppm. Konsentrasi ekstrak etanol biji mahoni sebesar 4,3 ppm dan 6,0 ppm untuk ekstrak etanol daun kelor. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol biji mahoni dan ekstrak daun salam memiliki tingkat kekuatan antioksidan tergolong kuat. Kuersetin juga masuk dalam tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat karena kuersetin yang digunakan adalah kuersetin yang sudah stabil. Kuersetin digunakan sebagai standar karena kuersetin adalah turunan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menghambat radikal bebas DPPH.



Gambar 4.6 Grafik Perbandingan Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol biji mahoni memiliki tingkat kekuatan sangat kuat dibanding dengan daun kelor. Grafik diatas menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol biji mahoni jauh lebih efektif ketimbang ekstrak etanol daun kelor. Ekstrak etanol biji mahoni diketahui mengandung saponin dan flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas. Flavonoid dapat bertindak sebagai penghambat pernapasan yang kuat dan senyawa pereduksi yang baik, serta dapat menghambat banyak reaksi oksidasi, termasuk reaksi enzimatik dan non-enzimatik. Reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal bebas DPPH.



Gambar 4.7 Reaksi antara DPPH dengan antioksidan (Windono, 2001)

Flavonoid berperan dalam transfer proton hidrogen atau elektron dari gugus hidroksil flavonoid ke radikal bebas untuk menstabilkan senyawa radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol biji mahoni, semakin tinggi pula efek antioksidannya. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil atau radikal bebas.

4.1.4 Uji Anova

Anova atau Analisis varians adalah teknik analisis statistik yang termasuk dalam bagian dari statistik inferensi. Uji anova dibedakan menjadi dua yaitu anova satu arah digunakan untuk menganalisis pada satu variabel terikat dan satu variabel bebas, anova dua arah digunakan untuk menganalisis pada lebih dari satu variabel. Anova berupa pengujian terhadap hipotesis atau pendugaan. Analisis varians adalah salah satu dari metode analisis multivarian yang digunakan untuk membedakan rata-rata lebih dari data dua kelompok dengan membandingkan varians akan terjadi perbedaan secara signifikan atau tidak signifikan antar kelompok tersebut.

Perhitungan uji anova dilakukan dengan menghitung jumlah pengamatan total, jumlah kuadrat total, jumlah kuadrat perlakuan, jumlah kuadrat galat dan rataan kuadrat galat dari persen inhibisi ekstrak etanol daun kelor dan biji mahoni dengan menentukan derajat kebebasan total. Hasil uji anova dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil Anova: Two-Factor With Replication

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
<i>Sample</i>	63,60306	4	15,90076	15546,63	2,83E-49	2,689628
<i>Columns</i>	4295,35	2	2147,675	2099844	6,43E-78	3,31583
<i>Interaction</i>	13,75788	8	1,719735	1681,435	1,32E-37	2,266163
<i>Within</i>	0,030683	30	0,001023			
Total	4372,741	44				

Ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dibandingkan rata rata menggunakan uji anova dengan menentukan hipotesis. H_0 atau hipotesis awal pada rata-rata pengukuran IC_{50} ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni tidak ada perbedaan secara signifikan atau $H_0 : \mu_1 = \mu_2$. H_i atau hipotesis alternatif pada rata-rata pengukuran IC_{50} ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni berbeda secara signifikan atau $H_i : \mu_1 \neq \mu_2$. Berdasarkan hasil uji analisis varians pada ekstrak etanol biji mahoni dan ekstrak etanol daun kelor diperoleh nilai F hitung sebesar 15,9008. F tabel diperoleh dari distribusi F didasarkan pada nilai data kebebasan sebesar 44 pada tingkat signifikansi (α) sebesar 5%, sehingga nilai F tabel yang diperoleh sebesar 2,6896. H_0 diterima dan H_i ditolak apabila F hitung < F tabel dan sebaliknya H_0 ditolak dan H_i diterima apabila F hitung > F tabel. Hal tersebut menunjukkan hipotesis awal (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_i) diterima dengan adanya perbedaan signifikan IC_{50} antara ekstrak etanol daun kelor dan biji mahoni.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil pengujian antioksidan pada kuersetin yang digunakan sebagai standar menunjukkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,997 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,998. Nilai Presisi (%RSD) 4,04% dengan CV Horwitz sebesar 10,90%. Nilai % *trueness* sebesar 128,19%. Nilai kuersetin IC_{50} 3,63 ppm.
2. Hasil Perbandingan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dengan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 6,0 ppm dan 4,3 ppm. Uji Anova pada ekstrak etanol biji mahoni dan ekstrak etanol daun kelor F hitung $>$ F tabel yang berarti adanya perbedaan signifikan antara kedua sampel tersebut. Kedua sampel tersebut berpotensi dapat digunakan sebagai antioksidan alami dan memiliki tingkat antioksidan yang kuat. Akan tetapi, ekstrak etanol biji mahoni memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil dibanding dengan ekstrak etanol daun kelor, yang berarti bahwa ekstrak etanol biji mahoni bekerja lebih efektif sebagai antioksidan dalam menghambat radikan bebas DPPH.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil perbandingan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol biji mahoni dengan metode DPPH, disarankan tidak menggunakan ekstrak kasar, sehingga tidak terlalu banyak pengotor atau gangguan dalam pengujian. Konsentrasi larutan dalam pengujian akan lebih baik apabila konsentrasi bernilai kecil seperti 1,2,3,4 dan 5 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Affairs, F. a. (2014). APPENDIX 1 – ORA Validation and Verification Guidance for Human Drug Analytical Methods. *Food and Drug Administration*, Vol 1.7 (17-19).
- Chung, C. C., Herman, L., Lee, Y., & Zhang, X.-M. (2004). *Analitycal Method Validation and Instrument performance verification*. Canda: John Wiley & Sons, inc.
- Ermer, J. H., & Miller, M. (2005). *Method Validation in Pharmaceuatical Analysisi A Guide To Best Practice*, Willey. Weinheim: Willey – Vch, Verlog GmbH and Co. KGaA .
- Fuglie, L. (2001). *The Miracle Tree : The Multiple Attributes Of Moringa*. Dakar.
- Gandjar, G. I., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Belajar: Yogyakarta.
- Gandjar, G. I., & Rohman, A. (2014). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Giriwijoyo, S. (2004). *Imu Faal Olahraga Fungsi Tubuh Manusia pada Olahraga*. Jakarta: Fakultas Pendidikan Olahraga Kesehatan Universitas Pendidikan Indonesia,.
- Halliwell, B. a. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean, *Br J Pharmacol*,. 142,55-231.
- Hartati, Salleh, L. M., Azis, A. A., & Yunos, M. A. (2013). PENGARUH JENIS PELARUT EKSTRAKSI BIJI MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI. *Bionature*, Vol.14 (11-15).
- Harvey, D. (2000). *Modern Analytical Chemistry*. USA: The McGraw-Hill, Inc.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K. K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Food Chem*, 50 (7): 2161-2168.
- Krisnadi, A. D. (2013). *e-Book Kelor Super Nutrisi*. Blora.
- Kuncahyo, I., & Sunardi. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi*, 1-9.

- Kurniasih. (2013). *Khasiat dan Manfaat Daun Kelor Untuk Penyembuha Berbagai Penyakit*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Madhavi, D. D. (1996). *Food antioxidants: technological: toxicological and health perspectives*. New York: Marcel Dekker.
- Neldawati, R. G. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics* , 76-83.
- Phaniendra A, J. D. (2015). Free Radicals : Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian j Clin Biochem*, 11-26.
- Prakash, A. (2001). Antioxidant Activity,. *Heart of Giant Recourse*., 19(2), 1- 4.
- Rao R S, M. I. (2011). Pattern Of Occurrence and Occupancy of Carbonylation Sites in Proteins. *Proteomics*, 4166-4173.
- Reynertson, A. K. (2007). *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituens from Edible Myrtaceae Fruit, Dissertation*. New York: The City University of New York.
- Riyanto. (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Deepublish: Yogyakarta.
- RL, P., X, W., & Schaich K. (2005). Standarized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements,. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:4290-4302.
- Rohman. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta.
- Rohman, A. (2006). *Pelacak Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- S N, M., Wu, D., Santos, M., & Hayek, M. (1995). Antioxidants and Immune Response in Aged Persons Overview of Present Evidence,. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1462 -1476., 62, 1462 -1476.
- S, K. W., & Cummings, M. R. (1994). Concepts of genetics 4th ed. *Prentice Hall*, 779.
- Sastrohamidjojo, H. (2007). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah mada university prees.
- Shah, P. M. (2016). Quercetin – A flavonoid:A systematic review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 878-880.
- Shah, P., & Modi, H. (2015). Comparative Study of DPPH , ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, 2321-9653.

- Sidik. (1997). Antioksidan Alami Asal Tumbuhan. *Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII 26 s/d 27 Juni 1997*.
- Sies H, S. W. (1995). Vitamins E and C, α -carotene, and other carotenoids as antioxidants, *American Journal Clinical Nutrition* 62 (supp),. 1315s-21s.
- Sreelatha S, P. P. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stage of Maturity. *Plant Foods Hum Nutr*, 303 - 311.
- Suhartati, T. (2013). *Dasar-dasar Spektrofotometri Uv-vis dan spektrometri Massa untuk*. Lampung : AURA.
- Sutrisno, L. (2011). *Efek Pemberian Ekstrak Methanol Daun Kelor (Moringa Oleifera) Meningkatkan Apoptosis pada Sel Epitel Kolon Tikus (Rattus Norvegicus) Wistar yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz (α) Antrasen (DMBA)*. . Malang : Universitas Brawijaya .
- Syarif R A, A. R. (2008). Identifikasi golongan senyawa antioksidan dengan metode perendaman radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun *Cordia myxa* L., *Fitofarmaka Indonesia*,. 2(1), 83-89.
- Tatang, I., Sugiyanto, Nuranto, S., & Kuswandi. (2017). Antioksidan.
- Tukiran, M. G. (2020). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) DAN BUAH BIT (*Beta vulgaris* L.) SEBAGAI BAHAN TAMBAHAN MINUMAN SUPLEMEN. *Jurnal Kimia Riset*, 113.
- Walpole, Ronald E. (1995). *Pengantar Statistika Edisi Ke-3*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Jakarta
- Wildman, R. (2001). *Handbook of Nutraceuticals and Functional Food*. Boca Raton: CRC Press .
- Winarti, S. (2010). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: graha Ilmu.
- Windono, T. S. (2001). Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1- Diphenyl-2- Picrylhydrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitisvinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali,. *J.Artocarpus*,, Vol.1 No.1.
- Wolf, G. (2002). The effect of β -carotene on lung and skin carcinogenesis. *Carcinogenesis* 23: 1263-1265.
- Yu L, H. S. (2002). Free Radical Scavenging Properties Of Wheat Extracts. *J Agric and Food Chem*, 50 : 1619-1624.
- Yuwono M, I. G. (2005). Valdation of Chromatographic Method of Analysis, Profile od Drug Substance, Excipients anda Related Methodologi. Vol.32, 243-259.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan % Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Serbuk sampel}} \times 100 \%$$

a. Sampel Daun Kelor :

Keterangan	Hasil
Serbuk sampel	5 gram
Cawan + Ekstrak	54,7492 gram
Cawan Kosong	52,8288 gram
Ekstrak	1,9204 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,9204 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% = 38,41\%$$

b. Sampel Biji Mahoni :

Keterangan	Hasil
Serbuk sampel	5 gram
Cawan + Ekstrak	55,8765 gram
Cawan Kosong	54,8587 gram
Ekstrak	1,0178 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,0178 \text{ gram}}{5 \text{ gram}} \times 100\% = 20,36\%$$

Lampiran 2. Pembuatan Larutan Deret Standar dan Sampel

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume Larutan yang dipipet (mg/L)

C_1 = Konsentrasi awal larutan (mg/L)

V_2 = Volume Larutan yang dibuat (mg/L)

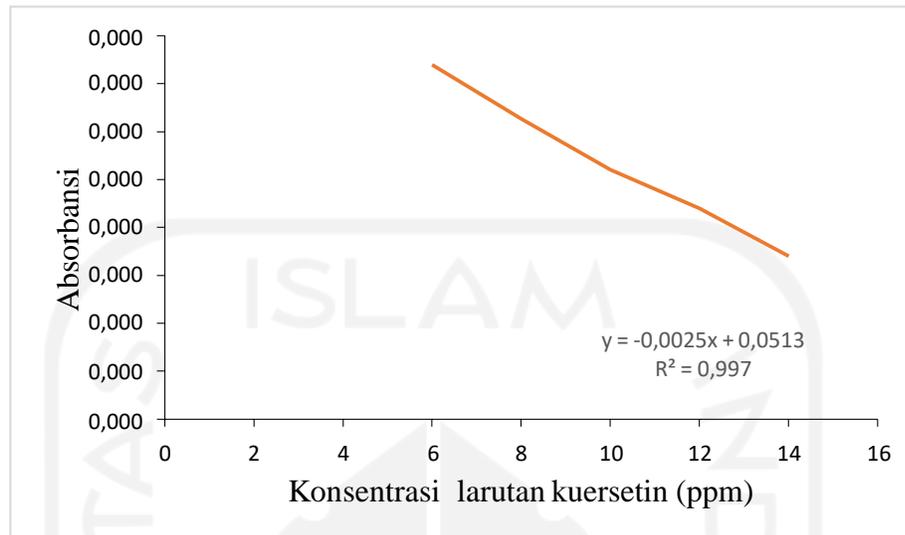
C_2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/L)

- a. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $= 100 \text{ ppm} \times V_1 = 6 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V_1 = 0,3 \text{ mL}$
- b. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $= 100 \text{ ppm} \times V_1 = 8 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V_1 = 0,4 \text{ mL}$
- c. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $= 100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V_1 = 0,5 \text{ mL}$
- d. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $= 100 \text{ ppm} \times V_1 = 12 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V_1 = 0,6 \text{ mL}$
- e. $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $= 100 \text{ ppm} \times V_1 = 14 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V_1 = 0,7 \text{ mL}$

Lampiran 3. Penentuan Lineritas Larutan Standar Kuersetin

Tabel Hasil Absorbansi Larutan Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rerata
	1	2	3	
6	0,037	0,037	0,037	0,037
8	0,031	0,032	0,031	0,031
10	0,026	0,026	0,026	0,026
12	0,022	0,022	0,022	0,022
14	0,017	0,017	0,017	0,017



Gambar Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Tabel Hasil Kurva Kalibrasi standar Kuersetin

Senyawa	Slope	Intersep	Koefisien Korelasi (r)	Koefisien Determinasi (R ²)
Kuersetin	-0,0025	0,0513	0,998	0,997

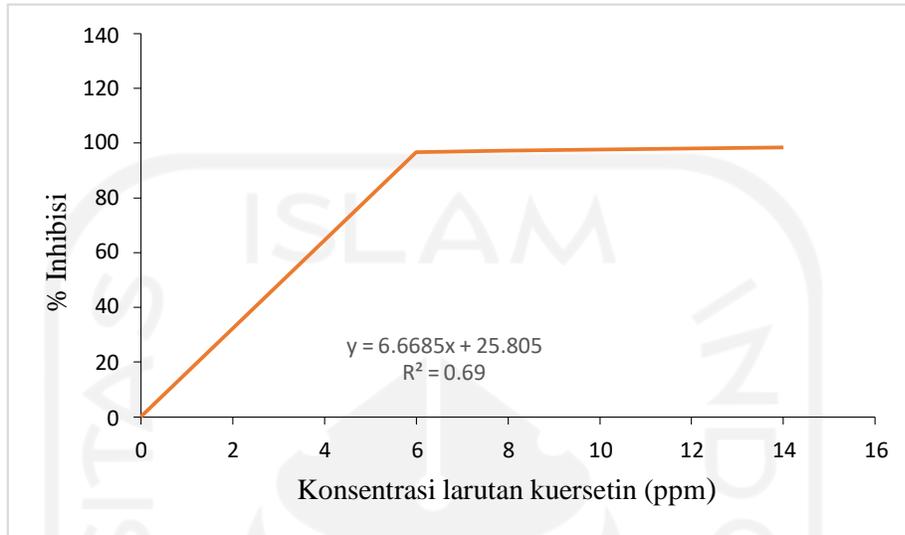
Lampiran 4. Penentuan Persen Inhibisi

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A \text{ blako} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

Tabel Penentuan Persen Inhibisi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi Kuersetin	Ekstrak etanol biji mahoni	Ekstrak etanol daun kelor	%I Kuersetine	% I ekstrak etanol biji mahoni	%I Ekstrak Kelor
0		0	0	0	0	0	0
6		0,037	0,143	0,315	96,74	87,40	72,25
8		0,031	0,108	0,300	97,24	90,48	73,57
10	1,135	0,026	0,107	0,296	97,71	90,57	73,92
12		0,022	0,101	0,289	98,06	91,13	74,51
14		0,017	0,092	0,261	98,50	91,86	77,00

Lampiran 5. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Standar Kuersetin

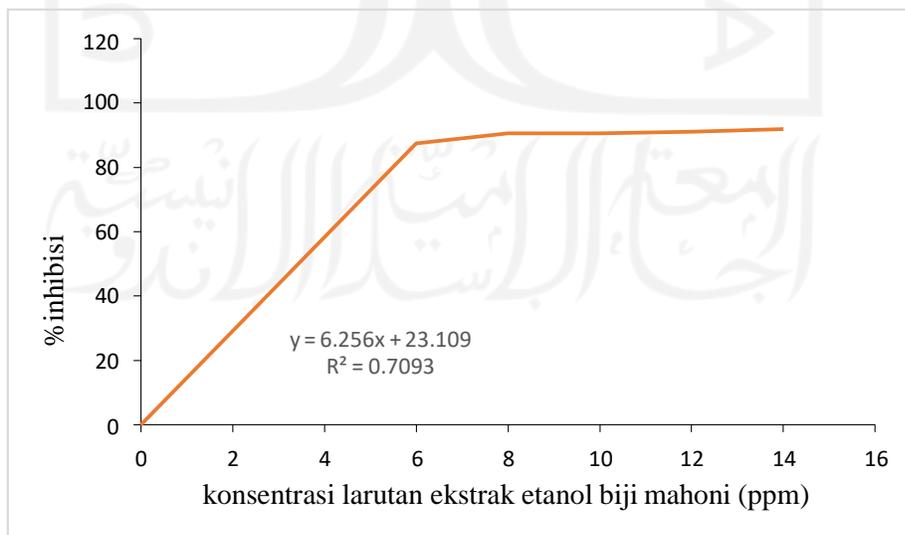


Gambar Kurva Inhibisi Larutan Standar Kuersetin

Tabel Hasil Kurva Inhibisi Standar Kuersetin

Senyawa	Slope	Intersep	Koefisien Korelasi (r)	Koefisien Determinasi (R ²)
Kuersetin	6,6685	25,805	0,8307	0,7093

Lampiran 6. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Biji Mahoni

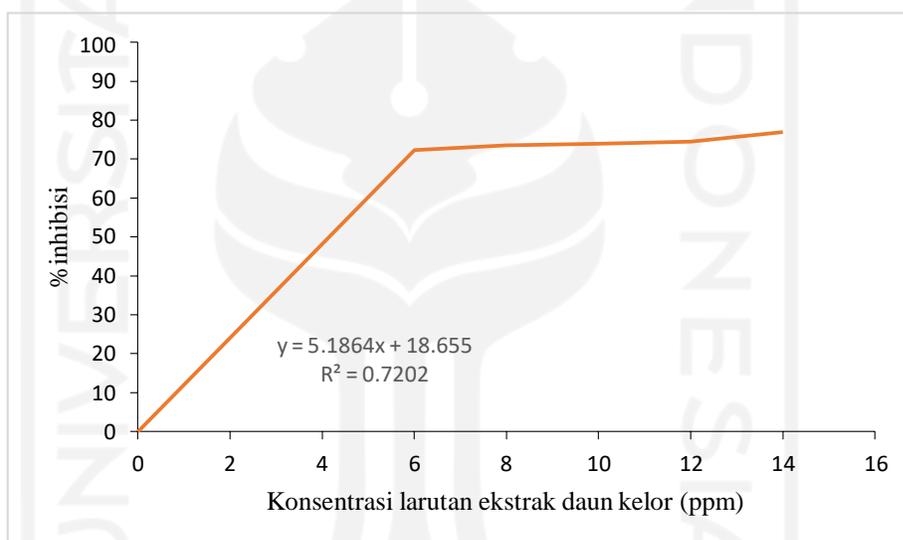


Gambar Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak etanol biji mahoni

Tabel Hasil Kurva Inhibisi Ekstrak etanol biji mahoni

Senyawa	Slope	Intersep	Koefisien Korelasi (r)	Koefisien Determinasi (R ²)
Ekstrak etanol biji mahoni	6,256	23,109	0,8422	0,7093

Lampiran 7. Penentuan Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Daun Kelor



Gambar Kurva Inhibisi Larutan Ekstrak etanol daun kelor

Tabel Hasil Kurva Inhibisi Ekstrak etanol daun kelor

Senyawa	Slope	Intersep	Koefisien Korelasi (r)	Koefisien Determinasi (R ²)
Ekstrak etanol daun kelor	5,1864	18,655	0,8486	0,7202

Lampiran 8. Penentuan IC50

$$IC\ 50 = \frac{50 - \text{Intersep}}{\text{Slope}}$$

Standar Kuersetine

Intersep	=	25,805
Slope	=	6,668
Y	=	50
IC 50	=	3,63

Ekstrak etanol biji mahoni

Intersep	=	23,109
Slope	=	6,256
Y	=	50
IC 50	=	4,3

Ekstrak etanol daun kelor

Intersep	=	18,655
Slope	=	5,186
Y	=	50
IC 50	=	6,0

Lampiran 9. Penentuan Presisi

Tabel Penentuan Standar Deviasi

Pengulangan	Konsentrasi larutan (ppm)	Absorbansi			Abs Rerata	Konsentrasi sebenarnya (ppm)
		1	2	3		
1		0,021	0,021	0,021	0,021	12,2973
2		0,021	0,021	0,021	0,021	12,2973
3		0,019	0,019	0,019	0,019	13,1081
4	10	0,021	0,016	0,017	0,018	13,5135
5		0,018	0,019	0,018	0,018	13,3784
6		0,021	0,019	0,018	0,019	12,9730
7		0,021	0,022	0,021	0,021	12,1622
Rata Rata						12,8185

Tabel Hasil Pengujian Presisi

SD	%RSD	CV Horwitz	2/3 CV Horwitz
0,518	4,041	10,899	7,266

Penentuan Presisi :

a. Konsentrasi

$$C \text{ (ppm)} = \frac{x - \text{intersep}}{\text{Slope}}$$

b. Standar Deviasi (SD)

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}}{n-1}$$

$$SD = \frac{\sqrt{1,878}}{7-1}$$

$$SD = 0,518$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$\%RSD = \frac{0,518}{12,819 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} \times 100\% = 4,041 \%$$

c. CV Horwitz

$$\%CV \text{ Horwitz} = 2^{1-0,5 \log c}$$

$$\%CV \text{ Horwitz} = 2^{1-0,5 \log (1,2818)}$$

$$\%CV \text{ Horwitz} = 10,899 \%$$

d. 2/3 CV Horwitz

$$2/3 \text{ CV Horwitz} = 2/3 \times CV \text{ Horwitz}$$

$$2/3 \text{ CV Horwitz} = 2/3 \times 10,899 \%$$

$$2/3 \text{ CV Horwitz} = 7,266 \%$$

Lampiran 10. Penentuan Akurasi

Tabel Hasil Pengujian Akurasi

Pengulangan	Konsentrasi larutan kuersetin (ppm)
1	12,2973
2	12,2973
3	13,1081
4	13,5135
5	13,3784
6	12,9730
7	12,1622
Rata rata	12,8185
% <i>Trueness</i>	128,19

a. **Penentuan %*Trueness*** = $\frac{\text{konsentrasi Rata rata}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$

$$\%Trueness = \frac{12,819 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}{10 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)} \times 100\%$$

$$\%Trueness = 128,1853 \%$$

Lampiran 11. Penentuan Uji Anova

Menggunakan Anova: *Two-Factor With Replication Microsoft Excel*

SUMMARY	Kuersetin	Daun kelor	Biji Mahoni	Total
<u>Konsentrasi</u>				
<u>6ppm</u>				
Count	3	3	3	9
Sum	290,2203	216,740088	262,2026432	769,162996
Average	96,74009	72,246696	87,40088106	85,4625551
Variance	0	0	3,02923E-28	114,599546

*Konsentrasi
8ppm*

Count	3	3	3	9
Sum	291,7181	220,704846	271,4537445	783,876652
Average	97,23935	73,5682819	90,4845815	87,0974058
Variance	3,03E-28	0	0	111,513474

*Konsentrasi
10ppm*

Count	3	3	3	9
Sum	293,1278	221,762115	271,7180617	786,60793
Average	97,70925	73,9207048	90,57268722	87,4008811
Variance	0	0	0	111,764249

*Konsentrasi
12ppm*

Count	3	3	3	9
Sum	294,185	223,526784	273,3913216	791,103128
Average	98,06167	74,508928	91,13044053	87,9003475
Variance	3,03E-28	0,00266475	0,002660935	109,882396

*Konsentrasi
14ppm*

Count	3	3	3	9
Sum	295,5066	231,013216	275,5942731	802,114097
Average	98,5022	77,0044053	91,86475771	89,1237885
Variance	1,01E-28	0,00776262	0,00225337	90,8826341

Total

Count	15	15	15	
Sum	1464,758	1113,74705	1354,360044	
Average	97,65051	74,2498032	90,2906696	
Variance	0,406244	2,62438826	2,497341081	

ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Sample	63,60306	4	15,90076436	15546,6347	2,8324E-49	2,68963
Columns	4295,35	2	2147,674912	2099843,54	6,43455E-78	3,31583
Interaction	13,75788	8	1,719735274	1681,43464	1,31743E-37	2,26616
Within	0,030683	30	0,001022779			
Total	4372,741	44				

