

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DENGAN METODE ABTS**

(Determination Of Total Flavonoid Content And Antioxidant Activities Of
Kluwih Leaf (*Artocarpus camansi*) Extract And Fractions Using *ABTS* Method)

SKRIPSI



**Oleh:
YACHINTA APRILLIANI KUSUMA WARDANI
4161041**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DENGAN METODE ABTS**

(Determination Of Total Flavonoid Content And Antioxidant Activities Of
Kluwih Leaf (*Artocarpus camansi*) Extract And Fractions Using *ABTS* Method)



SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S. Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

Oleh:

**YACHINTA APRILLIANI KUSUMA WARDANI
4161041**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DENGAN METODE ABTS**

(Determination Of Total Flavonoid Content And Antioxidant Activities Of Kluwih
Leaf (*Artocarpus camansi*) Extract And Fractions Using *ABTS* Method)

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S. Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

**Oleh:
YACHINTA APRILLIANI KUSUMA WARDANI
4161041**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DENGAN METODE ABTS**

Determination Of Total Flavonoid Content And Antioxidant Activities Of Kluwih Leaf
(*Artocarpus camansi*) Extract And Fractions Using *ABTS* Method

Oleh :

**YACHINTA APRILLIANI KUSUMA WARDANI
4161041**

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 15 September 2020

Pembimbing Utama

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
Ketua Program Studi,


apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.

Pembimbing Pendamping


apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M.Sc


C. E. Dhurhania, S. Farm., M. Sc

Tim Penguji

Ketua : Nastiti Utami, S. Si., M. Sc 

Anggota :

1. apt. Susilowati, S. Farm., M.Sc.

2. apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.

3. C. E. Dhurhania, S. Farm., M. Sc

1. 

2.

3. 

PERSEMBAHAN

“Rahmat sering datang ke kita dalam bentuk kesakitan, kalah, dan kekecewaan
tetapi jika kita sabar kita segera akan melihat bentuk yang diterima
(Joseph Addison).”

Mengerjakan dengan penuh keyakinan, berjalan dengan penuh keikhlasan.
Istiqomah dalam memnghadapi cobaan. YAKIN, IKHLAS, ISTIQOMAH
(Penulis)

Persembahan skripsi dan rasa terimakasih aku ucapkan untuk
Keluarga tercinta
Dosen-dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional terimakasih atas ilmu
yang telah diberikan selama ini.
Kepada teman seperjuangan angkatan S1 Farmasi
Kepada Indraningsih, Marlina, Saras, Hanifah, dan Sinta yang selalu memberikan
semangat untuk saling menguatkan satu sama lain

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk menyelesaikan Jenjang Pendidikan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh pengetahuan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat tiruan atau duplikasi karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Sukoharjo, 15 September 2020

Peneliti



(Yachinta Aprilliani Kusuma Wardani)

PRAKATA

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat, dan karunia-Nya yang selalu diberikan kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan penelitian dengan judul “Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dengan Metode ABTS” sebagai persyaratan untuk menyelesaikan program Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Dalam penyusunan skripsi ini banyak kendala yang telah dihadapi penulis namun akhirnya penulis mampu melaluinya berkat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc., selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk menyediakan arahan, memberikan bimbingan, dan nasehat yang membangun serta bantuan selama dalam penyelesaian skripsi.
3. C. E. Dhurhania, S. Farm., M. Sc., selaku pembimbing pendamping yang selalu memberikan dukungan, motivasi, dan pengarahan selama penyelesaian skripsi.
4. Nastiti Utami, S. Si., M. Sc. dan apt. Susilowati, S. Farm., M. Sc., selaku penguji yang telah memberikan masukan dalam penyelesaian skripsi.

5. Keluarga, kedua orang tuaku dan adikku yang selalu mendoakan, memberikan dukungan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
6. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2016 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.
7. Staf dan karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Laboratorium Kimia Analisis Instrumental STIKES Nasional, dan Teknologi Farmasi Bahan Alam STIKES Nasional.
8. Semua pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material

Penulis mohon maaf atas segala kesalahan yang pernah dilakukan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Sukoharjo, 15 September 2020

PENULIS



Yachinta Aprilliani Kusuma Wardani

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Kluwih (<i>Artocarpus camansi</i>)	5
1. Klasifikasi Tanaman Kluwih.....	5
2. Deskripsi Morfologi Kluwih.....	6
3. Kandungan dan Khasiat Tanaman Kluwih	7
B. Radikal Bebas	8
C. Antioksidan.....	9
D. Simplisia.....	12
E. Ekstraksi	13
F. Fraksinasi	15

G. Struktur Senyawa Flavonoid	17
H. Metode Flavonoid Total	20
I. Metode ABTS	20
J. Spektrofotometer UV-Vis	21
K. Landasan Teori	23
L. Hipotesis	24
M. Kerangka Konsep Penelitian	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
A. Desain Penelitian.....	25
B. Tempat Penelitian	25
C. Populasi dan Sampel	25
D. Variabel Penelitian.....	26
E. Definisi Operasional Variabel.....	26
F. Alat dan Bahan	27
G. Jalannya Penelitian.....	28
1. Persiapan Bahan.....	28
2. Pembuatan Serbuk.....	28
3. Susut Pengeringan.....	28
4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih.....	28
5. Pembuatan Fraksi Daun Kluwih	29
6. Penapisan Fitokimia Senyawa Flavonoid	29
7. Pengujian Pendahuluan Flavonoid Secara KLT	30
8. Penetapan Kadar Flavonoid Total	30
9. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS	32
H. Analisis Data Penelitian	36
I. Skema Jalannya Penelitian.....	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
A. Persiapan Sampel	42
B. Susut Pengeringan	43
C. Ekstraksi Sampel	45
D. Fraksinasi Sampel	48

E. Penapisan Fitokimia Senyawa Flavonoid.....	50
F. Pengujian Flavonoid Secara KLT	53
G. Penetapan Kadar Flavonoid Total	57
H. Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	65
BAB V. PENUTUP	74
A. Kesimpulan	76
B. Saran.....	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN.....	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman kluwih	6
Gambar 2. Struktur flavonoid	17
Gambar 3. Sktruktur kimia dan klasifikasi flavonoid	18
Gambar 4. Senyawa ABTS	20
Gambar 5. Bagan kerangka pikir	24
Gambar 6. Alur kerja penelitian.....	41
Gambar 7. Daun kluwih	42
Gambar 8. Simplisia daun kluwih.....	43
Gambar 9. Reaksi senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.....	51
Gambar 10. Penapisan fitokimia flavonoid replikasi I.....	52
Gambar 11. Penapisan fitokimia flavonoid replikasi II	53
Gambar 12. Penapisan fitokimia flavonoid replikasi III.....	53
Gambar 13. Hasil analisis KLT setelah disemprot reagen $AlCl_3$	56
Gambar 14. Hasil analisis KLT UV 254 nm	56
Gambar 15. Hasil analisis KLT UV 366 nm	57
Gambar 16. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin- $AlCl_3$	58
Gambar 17. Spektrum panjang gelombang maksimum baku kuersetin.....	61
Gambar 18. Kurva baku kuersetin	62
Gambar 19. Reaksi pembentukan radikal bebas dari abts dengan kalium persulfat.....	65
Gambar 20. Spektrum panjang gelombang maksimum radikal abts.....	68
Gambar 21. Kurva hubungan konsentrasi (ppm) dengan inhibisi (%) pada ekstrak dan fraksi daun kluwih replikasi I.....	69
Gambar 22. Kurva hubungan konsentrasi (ppm) dengan inhibisi (%) pada ekstrak dan fraksi daun kluwih replikasi II.....	69
Gambar 23. Kurva hubungan konsentrasi (ppm) dengan inhibisi (%) pada ekstrak dan fraksi daun kluwih replikasi III	69
Gambar 24. Hubungan kuersetin dengan inhibisi (%).....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan.....	12
Tabel 2. Hasil susut pengeringan	44
Tabel 3. Randemen ekstrak etanol	47
Tabel 4. Randemen fraksi ekstrak etanol	50
Tabel 5. Hasil penapisan fitokimia flavonoid ekstrak dan fraksi daun kluwih	52
Tabel 6. Nilai hRf analisis KLT	55
Tabel 7. Hasil penentuan <i>operating time</i> baku kuersetin	60
Tabel 8. Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi daun kluwih	63
Tabel 9. Hasil penentuan <i>operating time</i> radikal ABTS	67
Tabel 10. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun kluwih	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan pembuatan larutan baku kuersetin.....	85
Lampiran 2. Perhitungan pembuatan larutan baku pembanding kuersetin	88
Lampiran 3. Perhitungan randemen sampel.....	90
Lampiran 4. Perhitungan nilai Rf dan hRf pada pengujian KLT	93
Lampiran 5. Data dan perhitungan penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kluwih.....	95
Lampiran 6. Data dan perhitungan penetapan kadar flavonoid tota fraksi n-heksan daun kluwih	97
Lampiran 7. Data dan perhitungan penetapan kadar flavonoid total fraksi etil asetat daun kluwih	99
Lampiran 8. Data dan perhitungan penetapan kadar flavonoid total fraksi air daun kluwih.....	101
Lampiran 9. Data dan perhitungan IC_{50} aktivitas antioksidan pembanding baku kuersetin.....	103
Lampiran 10. Data dan perhitungan IC_{50} ekstrak etanol daun kluwih	105
Lampiran 11. Data dan perhitungan IC_{50} fraksi n-heksan daun kluwih.....	108
Lampiran 12. Data dan perhitungan IC_{50} fraksi etil asetat daun kluwih.....	111
Lampiran 13. Data dan perhitungan IC_{50} fraksi air daun kluwih	114
Lampiran 14. Hasil SPSS <i>One Way</i> ANOVA pada penetapan kadar flavonoid total	117
Lampiran 15. Hasil SPSS <i>One Way</i> ANOVA pada aktivitas antioksidan	119
Lampiran 16. Data pengukuran spektrofotometer UV-Vis penetapan kadar flavonoid total	122
Lampiran 17. Data pengukuran spektrofotometer UV-Vis aktivitas antioksidan	124
Lampiran 18. Gambar sampel, penimbangan, dan larutan.....	127

DAFTAR SINGKATAN

ABTS : *2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid)*

IC_{50} : *Inhibitory Concentration 50%*

OT : *Operating Time*

KLT : *Kromatografi Lapis Tipis*

Rf : *Retardation Factor*

INTISARI

Pemanfaatan tumbuhan kluwih selama ini hanya difokuskan pada buah dan batangnya saja sementara di dalam daun kluwih (*Artocarpus camansi*) juga mengandung banyak senyawa aktif terutama flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*).

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dilanjutkan dengan penambahan air hangat kemudian fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penetapan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan peredaman radikal bebas senyawa 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid) (ABTS) diukur pada panjang gelombang 427,5 nm pada menit ke-2. Analisis dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dengan menggunakan *One Way ANOVA*.

Pada penapisan fitokimia pada ekstrak dan fraksi daun kluwih mengandung senyawa flavonoid. Hasil penetapan kadar rata-rata flavonoid total pada ekstrak etanol sebesar $2,9950 \pm 0,0196\%$ *QE*, fraksi n-heksan sebesar $1,0262 \pm 0,0175\%$ *QE*, fraksi etil asetat sebesar $2,5019 \pm 0,0468\%$ *QE*, dan fraksi air sebesar $1,5165 \pm 0,0270\%$ *QE*. Rata-rata Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai *IC₅₀* dengan hasil pada ekstrak etanol sebesar $16,7181 \pm 0,2318$ ppm, fraksi n-heksan sebesar $23,0089 \pm 0,3990$ ppm, fraksi etil asetat sebesar $18,2579 \pm 0,2936$ ppm, dan fraksi air sebesar $18,5776 \pm 0,0697$ ppm. Berdasarkan analisis *one way ANOVA* pada kadar flavonoid total terdapat perbedaan bermakna antara ekstrak etanol dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) ($p < 0,05$). Aktivitas antioksidan ada perbedaan bermakna antara ekstrak etanol dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) ($p < 0,05$).

Kata kunci: Daun kluwih (*Artocarpus camansi*), Flavonoid, ABTS, *IC₅₀*

ABSTRACT

The use of kluwih plants so far has only been focused on the fruit and stems, while the leaves of kluwih (*Artocarpus camansi*) also contain many active compounds, especially flavonoids. The purpose of this study was to determine the total flavonoid levels and antioxidant activity of the extract and fraction of kluwih leaves (*Artocarpus camansi*).

The extract was made by maceration method using 70% ethanol solvent followed by the addition of warm water then fractionation using n-hexane and ethyl acetate solvents. Determination of flavonoid levels and antioxidant activity was carried out using a UV-Vis spectrophotometer. The antioxidant activity was based on the free radical scavenging ability of 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid) (ABTS) compounds measured at a wavelength of 427.5 nm at 2 minutes. The analysis was conducted to determine the differences in total flavonoid levels and antioxidant activity between extracts and fraction of kluwih leaves (*Artocarpus camansi*) using *One Way ANOVA*.

*In phytochemical screening, extracts and fractions of kluwih leaves contain flavonoids. The results of the determination of the total flavonoid mean content in the ethanol extract were $2.9950 \pm 0.0196\%$ QE, the n-hexane fraction was $1.0262 \pm 0.0175\%$ QE, the ethyl acetate fraction was $2.5019 \pm 0.0468\%$ QE, and the water fraction of $1.5165 \pm 0.0270\%$ QE. The average antioxidant activity is expressed in IC₅₀ values with the results in the ethanol extract of 16.7181 ± 0.2318 ppm, the n-hexane fraction 23.0089 ± 0.3990 ppm, the ethyl acetate fraction 18.2579 ± 0.2936 ppm, and the water fraction of 18.5776 ± 0.0697 ppm. Based on *one way ANOVA* analysis on total flavonoid levels, there was a significant difference between ethanol extract and kluwih leaf fraction (*Artocarpus camansi*) ($p < 0.05$). There was a significant difference in antioxidant activity between ethanol extract and kluwih leaf fraction (*Artocarpus camansi*) ($p < 0.05$).*

Keyword : Kluwih Leaves (*Artocarpus camansi*), Flavonoids, ABTS, IC₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyebab utama banyaknya kematian di dunia diakibatkan oleh adanya penyakit degeneratif (Mills dkk., 2016). Penyakit degeneratif di Indonesia selalu mengalami peningkatan pada tahun 2007 sebanyak 9,4 % menjadi 13,3 % pada tahun 2013 (Kementrian Kesehatan, 2018). Penyakit degeneratif muncul karena adanya kerusakan sel akibat reaktivitas senyawa radikal bebas (Indriyawati, 2015).

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang tidak memiliki pasangan elektron dikulit terluar sehingga sangat reaktif *dan* mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau DNA (Rao dkk., 2011). Radikal bebas yang merusak tubuh dapat dilakukan pemerangkapan oleh senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh.

Senyawa antioksidan adalah senyawa yang mampu memperlambat dan mencegah terjadinya stres oksidatif pada sel dengan menghambat reaksi oksidasi sel yang akan mendonorkan satu atom elektronnya sehingga radikal bebas menjadi stabil dan tidak bersifat reaktif. Penggunaan antioksidan alami dibutuhkan sebagai alternatif dalam bidang kesehatan dan industri (Subiyandono, 2013). Sumber antioksidan alami banyak dikembangkan karena sebagian besar berasal dari buah, sayuran, atau tanaman lain yang mengandung vitamin A, C, E, asam folat, antosianin, senyawa fenol, dan flavonoid (Smejkal, 2016). Senyawa metabolit yang

memiliki potensi sebagai antioksidan alami adalah flavonoid (Sayuti dan Rina, 2015).

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid adalah tanaman kluwih terutama pada bagian daunnya. Penelitian pada ekstrak etanol daun kluwih memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, antrakuinon, steroid/triterpenoid, dan memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan dosis 50 dan 100 mg/kg bb (Marianne dkk., 2011). Menurut Soegihardjo (2005) menyatakan bahwa daun kluwih mengandung artokarpin (salah satu senyawa dari golongan flavonoid), papayotin, dan asam gamma aminobutric (GABA). Daun kluwih menunjukkan adanya senyawa flavonoid golongan kalkon (Mariana dkk., 2013). Penelitian dalam fraksi n-heksan diduga mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya bercak berfluoresensi biru pada plat KLT (Wismayanti dkk., 2016).

Nasution dkk (2014) juga mengemukakan bahwa ekstrak n-heksan mampu menurunkan kadar gula darah sebanyak 34,33 mg/dL, ekstrak etil asetat mampu menurunkan kadar gula darah sebanyak 28,33 mg/dL, dan ekstrak metanol mampu menurunkan kadar gula darah sebanyak 34,33 mg/dL. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun kluwih dengan metode aluminium klorida memiliki kadar flavonoid sebesar $0,22 \pm 0,01\%$ b/b (Windyaswari dkk., 2015). Aktivitas antioksidan daun kluwih digambarkan pada nilai IC_{50} dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yaitu pada ekstrak etanol 96% sebesar 38,65 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat

(Marianne dan Rosidah, 2012) dan ekstrak etanol 70% sebesar 54,72 µg/mL dikategorikan sebagai antioksidan kuat (Agustikawati dkk., 2017).

Pengujian antioksidan daun kluwih dapat dilakukan dengan salah satu metode yaitu dengan menggunakan metode ABTS (*2,2 Azinobis (3 ethylbenothiazoline) 6-Sulfonic Acid*). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS karena metode ini memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode DPPH. Metode ABTS memiliki sensitivitas 99,5% dibandingkan dengan metode DPPH memiliki sensitifitas 95,3% (Shalaby dkk., 2013). Prinsip uji ABTS adalah penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan kation radikal ABTS dengan penambahan natrium persulfat. Senyawa ABTS mempunyai karakteristik warna biru-hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk nonradikal, dari berwarna menjadi tidak berwarna (Martysiak dkk., 2011).

Berdasarkan uraian aktivitas farmakologi daun kluwih maka, dilakukan penelitian untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi dengan menggunakan metode ABTS.

B. Perumusan Masalah

1. Berapa kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) ?
2. Berapa nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dengan metode ABTS ?

3. Apakah ada perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*).
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dengan metode ABTS.
3. Mengetahui adanya perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*).

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dalam pengembangan obat tradisional.
2. Memberikan manfaat sebagai sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental. Penelitian bersifat eksperimental karena adanya intervensi perlakuan dalam proses penyarian yaitu dalam bentuk ekstraksi dan fraksinasi.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Intrumental dan Teknologi Farmasi Bahan Alam STIKES Nasional. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020 - Juli 2020.

C. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah daun kluwih yang berasal dari tanaman kluwih dari Dusun Mlangse Lor, Tubokarto, Pracimantoro, Wonogiri. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun kluwih dari satu pohon kluwih yang tumbuh di sawah dari Dusun Mlangse Lor, Tubokarto, Pracimantoro, Wonogiri. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah purposif sampling yaitu teknik pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu ketentuan atau pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri, berdasarkan ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya. Penelitian ini menggunakan daun kluwih yang muda memiliki warna hijau muda dengan tekstur lunak.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas cara penyarian sampel dengan metode ekstraksi dan fraksinasi
2. Variabel tergantung kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi
3. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kualitas bahan, penetapan waktu kestabilan serapan, dan alat.

E. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional digunakan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun kluwih adalah:

1. Ekstrak etanol daun kluwih adalah ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi simplisia dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%
2. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) merupakan hasil ekstrak yang dibuat dengan mengekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi, lalu pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.
3. Kadar flavonoid total merupakan kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (*QE*). Kadar flavonoid total didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus total flavonoid, dimana kadar flavonoid dalam sampel (sumbu x) diketahui dengan memasukkan absorbansi sampel ke dalam sumbu y pada persamaan regresi linier kuersetin (Desmiaty, 2009).
4. *Inhibitory Concentration 50%* (*IC₅₀*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal ABTS sebanyak 50%. Nilai *IC₅₀* digunakan untuk

menentukan daya aktivitas antioksidan yang dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1240), timbangan analitik (Ohaus, EP 214), timbangan teknik (Acis BC 500), *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), kuvet (HELMA), bejana maserasi, plat silika gel GF₂₅₄, chamber, batang pengaduk, gelas ukur (pyrex), gelas beker (pyrex), corong kaca (pyrex), cawan porselin, labu ukur 50,0 ml (pyrex), labu ukur 25,0 ml (pyrex), labu ukur 10,0 ml (pyrex), labu ukur 5,0 ml (pyrex), pipet volume 5,0 ml (pyrex), pipet volume 1,0 ml (pyrex), blender, botol semprot, UV-cabinet, spatel, oven, lempeng kaca, pipet tetes, pinset, statim, corong pisah.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kluwih, standar kuersetin (Aldrich Chemistry), metanol p.a (E. Merck), etanol 70% (Medika), AlCl₃ p.a (E. Merck), serbuk magnesium, akuades, etil asetat (E. Merck), n-heksan (E. Merck), serbuk ABTS (*2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6-sulfonic acid)*), K₂S₂O₈ (kalium persulfat), natrium asetat, natrium klorida, kalium klorida, natrium hidrogen fosfat, kalium hidrogen fosfat.

G. Jalannya Penelitian

1. Persiapan Bahan

Daun kluwih diperoleh dari Dusun Mlangse Lor, Desa Tubokarto, Pracimantoro, Wonogiri selanjutnya dilakukan penyortiran dan ditimbang 3,0 kg kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

2. Pembuatan Serbuk

Daun kluwih yang telah kering kemudian dibuat sediaan serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender. Serbuk diayak dengan menggunakan pengayak ukuran 40 mesh. Hasil pengayakan disimpan dalam wadah kering dan tertutup (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

3. Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan serbuk dilakukan dengan alat *moisture balance*. Serbuk daun kluwih ditimbang sebanyak 2,0 gram dimasukkan pada alat *moisture balance* pada suhu 105°C sampai nilai susut pengerinan muncul pada alat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Serbuk daun kluwih sebanyak 300,0 gram secara seksama dimasukkan dalam bejana maserasi dengan pelarut etanol 70% 2250,0 ml dibuat dengan perbandingan 1:7,5 yaitu dalam 1 bagian simplisia dimasukkan dalam 7,5 bagian, selanjutnya cairan penyari didiamkan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan satu kali dalam sehari. Hasil maserat disaring menggunakan kain flanel. Hasil penyaringan ditambahkan kembali dengan 750,0 ml etanol 70% didiamkan selama 2 hari, perlakuan tersebut

disebut sebagai proses remaserasi. Setelah itu didapatkan filtrat ekstrak etanol daun kluwih, kemudian ekstrak dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental, pembuatan ekstrak dilakukan dengan replikasi 3 kali (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

5. Pembuatan Fraksi Daun Kluwih

a. Pembuatan fraksi n-heksan daun kluwih

Ekstrak etanol daun kluwih yang telah kental ditimbang seksama sebanyak 50,0 gram, dilarutkan dalam 50,0 ml air hangat diaduk sampai larut. Fraksinasi dilakukan dengan pelarut n-heksan sebanyak 50,0 ml, dilakukan 3 kali dengan menggunakan corong pisah. Filtrat hasil fraksinasi dikumpulkan dan kemudian dipekatkan di atas *waterbath* pada suhu 40°C. Filtrat n-heksan yang sudah mengental disebut sebagai fraksi n-heksan, pembuatan fraksi dilakukan dengan replikasi 3 kali (Maravirnadita, 2019).

b. Pembuatan fraksi etil asetat daun kluwih

Sisa residu pada hasil fraksinasi n-heksan kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat (1:1) dilakukan fraksinasi sebanyak 3 kali dengan menggunakan corong pisah. Filtrat fraksinasi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan di atas *waterbath* pada suhu 40°C. Filtrat etil asetat yang sudah mengental disebut sebagai fraksi etil asetat, pembuatan fraksi dilakukan dengan replikasi 3 kali. Residu sisa fraksinasi etil asetat disebut sebagai fraksi air (Maravirnadita, 2019).

6. Penapisan Fitokimia Senyawa Flavonoid

Ekstrak dan fraksi daun kluwih sebanyak 1,0 ml diuapkan hingga kering, ditambahkan 1,0 ml etanol, kemudian ditambahkan sedikit serbuk

magnesium dan 2,0 ml asam klorida 5 M. Hasil positif ditandai dengan warna merah hingga merah lembayung menunjukkan adanya senyawa flavonol, flavonone, flavonolol dan dihidroflavonol (Hanani, 2017).

7. Pengujian Pendahuluan Flavonoid Secara KLT

Ekstrak daun kluwih, fraksi daun kluwih, dan standar kuersetin yang telah dilarutkan dengan etanol, ditotolkan bersama-sama pada lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam yang digunakan plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan adalah etil asetat:metanol (3:1). Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, sebelum dan setelah disemprot dengan AlCl₃ 5%. Hasil positif ditandai dengan adanya bercak dengan fluoresensi berwarna kuning menunjukkan adanya flavonoid (Markham, 1998).

8. Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan reagen untuk penetapan kadar flavonoid total

1) Pembuatan larutan AlCl₃ 10%

Serbuk AlCl₃ ditimbang sebanyak 5,0 gram, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass dilarutkan dengan sebagian akuades hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

2) Pembuatan natrium asetat 1 M

Natrium asetat ditimbang sebanyak 1,0 gram dan ditambahkan ke dalam beaker glass dilarutkan dengan sebagian akuades hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml, dan ditambahkan akuades hingga batas tanda.

3) Pembuatan larutan blangko

Reagen AlCl_3 10% sebanyak 0,2 ml ditambahkan 0,2 ml natrium asetat 1M ke dalam labu ukur 10,0 ml, ditambahkan akuades hingga tanda batas.

b. Preparasi larutan baku kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang secara seksama serbuk kuersetin sebanyak 25,0 mg, dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas 25,0 ml. Larutan baku intermediet kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengencerkan 1,0 ml larutan baku 1000 ppm hingga 10,0 ml.

c. Penentuan *operating time* (OT)

Absorbansi larutan baku kerja kuersetin 20 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum teoritis 428 nm dengan interval waktu 1 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. *operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Indrayani, 2008).

d. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan baku kerja kuersetin konsentrasi 20 ppm diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 375-450 nm pada waktu tercapainya *operating time*. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Kusuma, 2012).

e. Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dengan deret konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm dibuat dari larutan intermediet 100 ppm

yang dipipet 1,0 ml, 1,5 ml, 2,0 ml, 2,5 ml, dan 3,0 ml yang masing-masing diencerkan hingga 10,0 ml. Masing-masing konsentrasi larutan baku kerja diambil 1,0 ml ditambahkan 3,0 ml metanol p.a, 0,2 AlCl₃ 10%, 0,2 ml natrium asetat 1 M, dan akuades hingga 10,0 ml (Chang *et al.*, 2002). Inkubasi selama 22 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis 427,5 nm (Kusuma, 2012).

f. Penetapan kadar flavonoid total

Ekstrak etanol dan fraksi daun kluwih masing masing ditimbang 100,0 mg dilarutkan dalam 10,0 ml metanol p.a. Larutan dipipet 1,0 ml diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml, selanjutnya diambil 1,0 ml ditambah dengan 3,0 ml metanol p.a, ditambahkan 0,2 ml AlCl₃ 10%, 0,2 ml natrium asetat 1M, dan ditambahkan akuades dalam labu ukur 10,0 ml. Campuran dikocok homogen lalu didiamkan selama 22 menit kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 427,5 nm (Chang *et al.*, 2000).

9. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

a. Pembuatan larutan baku pembanding kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang seksama sebanyak 10,0 mg, dilarutkan dengan metanol p.a dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml (konsentrasi 1000 ppm). Larutan baku intermediet 100 ppm dibuat dengan mengencerkan 1,0 ml larutan baku 1000 ppm hingga 10,0 ml. Larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan intermediet 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml;

0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; dan 0,25 ml dalam labu ukur 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas (Kusuma, 2012).

b. Pembuatan larutan

- 1) Larutan ABTS: ABTS (7 mM) ditimbang seksama sebanyak 18,0 mg dilarutkan ke dalam aquades dalam labu ukur 5,0 ml (Pulungan dan Widad, 2018).
- 2) Larutan $K_2S_2O_8$: Kalium persulfat (2,45 mM) ditimbang seksama sebanyak 14,0 mg dilarutkan ke dalam akuades dimasukkan sampai tanda batas 25,0ml (Pulungan, 2018).
- 3) Larutan PBS pH 7,4 : Natrium klorida ditimbang seksama sebanyak 8,0 g, 0,2 g kalium klorida, 1,42 g natrium hidrogen fosfat, 0,24 kalium hidrogen fosfat dilarutkan dalam akuades sampai 1,0 L (Pulungan, 2018).
- 4) Larutan radikal ABTS : Larutan ABTS sebanyak 5,0 ml ditambahkan 5,0 ml larutan kalium persulfat, diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama 12-16 jam sebelum digunakan, dihasilkan ABTS dengan warna biru gelap. Larutan yang diperoleh digunakan sebagai larutan kontrol (Pulungan, 2018).
- 5) Larutan blanko: Kalium persulfat sebanyak 5,0 ml ditambahkan dengan 5,0 ml akuades diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24⁰C selama 12-16 jam sebelum digunakan.

c. Penentuan *operating time* (OT)

Larutan baku kerja kuersetin 15 ppm dipipet 0,1 ml kemudian ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS. Absorbansi larutan diukur pada

panjang gelombang maksimum teoritis 734 nm dengan interval waktu 1 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Rosidah dkk., 2008).

d. Pengukuran panjang gelombang maksimum

Larutan radikal ABTS dipipet sebanyak 1,0 ml dan ditambahkan dengan PBS pH 7,4 hingga 25,0 ml. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700-750 nm, ditentukan panjang gelombang saat diperoleh serapan tertinggi (Pulungan, 2018).

e. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan baku pembanding kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan intermediet 100 ppm yang dipipet masing - masing sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; 1,25 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Masing - masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml larutan baku kerja ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 2 menit yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm (Faisal, 2019).

f. Pengukuran aktivitas antioksidan

1) Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kluwih

Ekstrak etanol ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50,0 ml sebagai larutan ekstrak 1000 ppm. Larutan ekstrak dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan ekstrak 100 ppm yang dipipet

masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5ml; 0,75 ml; 1,0 ml, dan 1,25 ml ditambahkan metanol p.a hingga 5,0 ml. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml larutan ekstrak ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 2 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 734 nm, dilakukan replikasi 3 kali (Faisal, 2019).

2) Pengukuran aktivitas fraksi n-heksan daun kluwih

Fraksi n-heksan ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50,0 ml sebagai larutan fraksi n-heksan 1000 ppm. Larutan n-heksan dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan fraksi n-heksan 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5ml; 0,75 ml; 1,0 ml, dan 1,25 ml ditambahkan metanol p.a hingga 5,0 ml. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml larutan fraksi n-heksan ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 2 menit dan diukur serapannya panjang gelombang 734 nm, dilakukan replikasi 3 kali (Faisal, 2019).

3) Pengukuran aktivitas fraksi etil asetat daun kluwih

Fraksi etil asetat ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50,0 ml sebagai larutan fraksi etil asetat 1000 ppm. Larutan etil asetat dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan fraksi etil asetat 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5ml; 0,75 ml; 1,0 ml, dan 1,25 ml ditambahkan metanol p.a hingga 5,0 ml. Masing-masing

konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml larutan fraksi etil asetat ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 2 menit yang diperoleh dan diukur serapannya pada panjang gelombang 734 nm, dilakukan replikasi 3 kali (Faisal, 2019).

4) Pengukuran aktivitas fraksi air daun kluwih

Fraksi air ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50,0 ml sebagai larutan fraksi air 1000 ppm. Larutan fraksi air dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan fraksi air 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5ml; 0,75 ml; 1,0 ml, dan 1,25 ml ditambahkan metanol p.a hingga 5,0 ml. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml larutan fraksi air ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 2 menit yang diperoleh dan diukur serapannya pada panjang gelombang 734 nm, dilakukan replikasi 3 kali (Faisal, 2019).

H. Analisis Data Penelitian

1. Perhitungan Randemen

Ekstrak dan fraksi daun kluwih yang diperoleh dari hasil maserasi dihitung rendemennya dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{bobot yang diperoleh}}{\text{bobot bahan awal}} \times 100\%$$

2. Analisis Kualitatif Flavonoid

Ekstrak dan fraksi daun kluwih dianalisis dengan KLT dan pereaksi

warna. Flavonoid dengan KLT diidentifikasi dengan penyemprotan reagen $AlCl_3$, yang akan memberikan warna kuning. Uji reagen dengan serbuk magnesium ditambah dengan asam klorida akan berwarna merah sampai merah lembayung berarti positif mengandung flavonoid (Hanani, 2017).

3. Perhitungan Regresi Linier

Kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sebagai y dan nilai x sebagai konsentrasi larutan baku. Persamaan regresi linier dinyatakan dengan rumus :

$$y = bx + a$$

Keterangan : y = absorbansi

a = intersep

x = konsentrasi (ppm)

b = slope (kemiringan)

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dimasukkan ke dalam regresi linier. Absorbansi sampel sebagai y, sehingga kadar flavonoid total yang diperoleh dinyatakan sebagai jumlah mg ekuivalen kuersetin (*QE*) pada tiap gram ekstrak dan fraksi.

$$\text{Kadar Flavonoid total (mg/100g)} = \frac{\text{konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}{\text{berat sampel}} \times Fp$$

4. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Hasil uji penangkal radikal bebas metode ABTS pada ekstrak dan fraksi daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dipaparkan sebagai hasil

penelitian, sehingga didapat jumlah persen penangkal antioksidan. Pengukuran presentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus (Cholisoh dan Utami, 2008) :

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

Keterangan : Absorbansi kontrol = Absorbansi larutan radikal ABTS

Absorbansi sampel = Absorbansi larutan sampel yang telah ditambah radikal ABTS

5. Penetapan IC_{50}

Perhitungan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50%*) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu meredam proses oksidasi sebesar 50%, melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y). Nilai IC_{50} diperoleh dengan mensubstitusikan y sebagai % inhibisi sebesar 50% dan x sebagai IC_{50} . Perhitungan nilai IC_{50} dapat dituliskan dengan cara mengubah $y=50$

$$Y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50-A}{B} = IC_{50}$$

6. Perhitungan Koevisien Variasi (KV)

Data penetapan kadar tiap replikasi pada masing-masing proses ekstraksi dan fraksinasi dihitung nilai koefisien variasi. Koefisien variasi (KV) digunakan untuk mengetahui hasil kesesuaian analisis satu dengan

hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogenya. Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2% (Snyder dkk., 2010)

$$\%KV = \frac{\text{standar deviasi}}{\text{rata - rata kadar sampel}} \times 100\%$$

7. Uji Statistik

Pengolahan data menggunakan analisis statistik *One Way ANOVA*. *One Way ANOVA* adalah uji statistik yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antara dua atau lebih jumlah kelompok sampel. *One Way ANNOVA* digunakan untuk menguji hipotesis komparatif sampel, bila pada setiap sampel hanya terdiri atas satu kategori. Tahapan yang dilakukan dalam *One Way ANOVA* yaitu:

a. Menentukan H_0 dan H_1

1) Kadar flavonoid total

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap kadar flavonoid total

$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \dots \neq \mu_n$, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap kadar flavonoid total

2) Aktivitas antioksidan

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil

asetat, fraksi air terhadap aktivitas antioksidan

$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \dots \neq \mu_n$, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan air fraksi air terhadap aktivitas antioksidan

b. Kriteria Pengujian

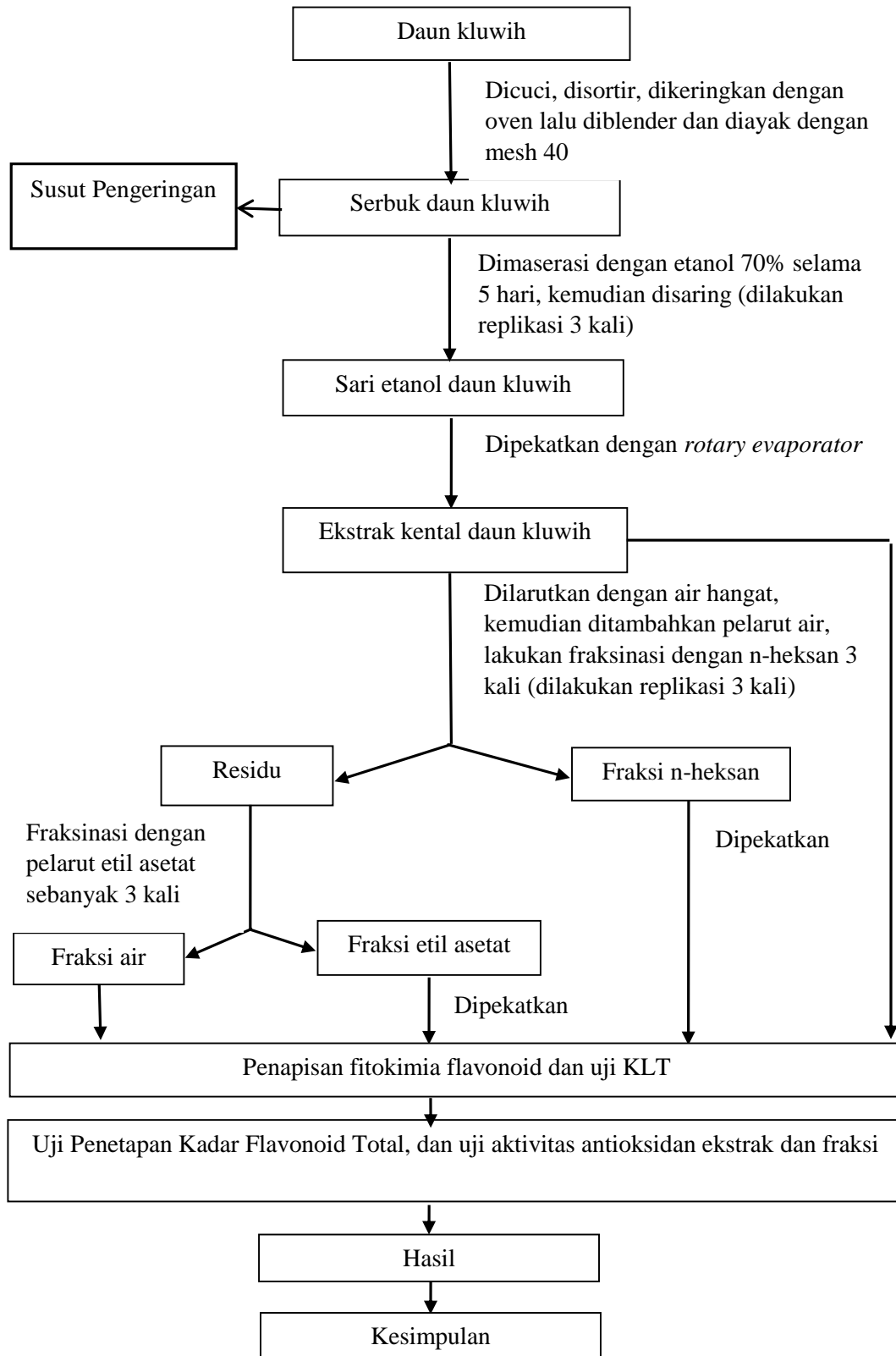
1) Kadar flavonoid total

$F_{hitung} \leq F_{tabel}$, maka H_0 diterima artinya kadar flavonoid total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air tidak berbeda secara signifikan. $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang artinya kadar flavonoid total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berbeda secara signifikan.

2) Aktivitas antioksidan

$F_{hitung} \leq F_{tabel}$, maka H_0 diterima artinya kadar flavonoid total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air tidak berbeda secara signifikan. $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang artinya aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berbeda secara signifikan.

I. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 6. Alur kerja penelitian

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Rata-rata kadar flavonoid total dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut yaitu sebesar $2,9950 \pm 0,0196\%$ *QE*, $1,0262 \pm 0,0175\%$ *QE*, $2,5019 \pm 0,0468\%$ *QE*, dan $1,5165 \pm 0,0270\%$ *QE*.
2. Rata-rata IC_{50} dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut yaitu sebesar $16,7181 \pm 0,2318$ ppm, $23,0089 \pm 0,3990$ ppm, $18,2579 \pm 0,2936$ ppm, dan $18,5776 \pm 0,0697$ ppm
3. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kluwih adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

B. Saran

Penelitian lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui bagaimana efek kandungan antioksidan daun kluwih dalam bentuk sediaan obat tradisional serta mampu mengisolasi senyawa aktif lain yang berperan dalam antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, Bandung: ITB Press
- Agustikawati, N., Yayuk, A., Dedy, S., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penapisan Fitokimia Dari Ekstrak Daun Pakoasi Dan Kluwih Sebagai Sumber Antioksidan Alami, *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 3 (2)
- Andarwulan, N., dan Faradilla, R.H.F., 2012, *Senyawa Fenolik pada Beberapa Sayuran Indigenous dari Indonesia*, South East Asian Food and Agricultural, Bogor: Science and Technology (Seafast) Center
- Andhika, D.P., dan Alfi, A., 2017, Karakterisasi dan Senyawa Bioaktif Ekstrak Kering Daun Kluwih dari Posisi Daun yang Berbeda, *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*, 21 (2)
- Arifin, B., dan Sanusi, I., 2018, Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 16 (1)
- Arnao, M.B., Cano A., dan Acosta, M., 1999, Method to Measure The Antioxidant Activity In Plant Material. *A Comparative Discussion Free Radikal Res.* 31
- Asmorowati, H., dan Novena Y.L., 2019, Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15 (2)
- Azizah, N.D., Endang, K., dan Fahrauk, F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.), *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2)
- Azwanida, N.N., 2015, A review on the extraction methods use in medicinal plant, principle strength and limitation, *Med Aromat Plants*, 4 (3)
- Badarinath, A., Rao, K., Chetty, C.S., Ramkanth, S., Rajan, T, dan Gnanaprakash, K., 2010, A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations, *International Journal of PharmTech Research*
- Bambang, S., dan Eko, S., 2005, Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus, *Majalah Kedokteran Indonesia*, 55 (2)
- Baraja, M., 2008, Uji Toksisitas Daun *Ficus Elastica* Nois ex Blume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*, Surakarta :Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Behera, 2012, UV-Vis Spectrophotometric Method Development and Validation of

Assay of Paracetamol Tablet Formulation, *Journal Anal Bional Techniques*, ISSN: 2155-9872

- Belleville, N.F., 1996, Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan, CFNS-IPB dan Kedutaan Besar Prancis-Jakarta, *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler*
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., dan Chern, J., C., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content In Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *J. Food Drug Ana*, 10
- Cholisoh, Z., dan Utami, W., 2008, Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (Archidendron jiringa), *Jurnal Pharmacon Fakultas Fratmasi*, 9 (1)
- Chu, Y.H.C.L., Chang, H.F., dan Hsu, 2000, Flavonoid Content of Several Vegetables and Their Antioxidant Activity, *Journal of the Science of Food Agriculture*, 80
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Desmiaty, Y., Julia, R., Peni, A., 2009, Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) secara Kolorimetri Komplementer, *Seminar Nasional POKJANAS POI TOI XXXVI*
- Dirjen POM, 1986, *Sediaan Galenik*, Jakarta: Depkes RI
- Dirjen POM, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Ergina, S.N., dan Indarini, D., P., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol, *Jurnal Akademika Kimia*, 3 (3)
- Eryuda, F., dan Tri, U.S., 2016, Ekstrak Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Penderita Diabetes Melitus, *MAJORITY*, 15 (4)
- Fadillah, A., Agung, R., dan Laode, R., 2017, Analisis Kadar Total Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelubut (*Passiflora foetida* L.),

Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conference, Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda

- Faisal, H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid), *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*.
- Fidrianny, I., Darmawati, A., Sukrasno, 2014, Antioksidant Capacities from Different Polarities Extracts of Cucurbites Leaves Using FRAP, DPPH Assay and Corelation with Phenolic, Flavonoid, Crotenoid Content, *Int. J. Pharm. Sci.*, 6
- Fitriana, W.D., Ersam, T., Shimizu, K., dan Fatmawati, S., 2016, Antioxidant Activity of Moringa oleifera Extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16 (3)
- Flach, A., Pontis, J.A.L.A.M.A., Da Costa, S.J.R., dan Da Silva, 2014, Color, Phenolic and Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Honey from Roraima, Brazil, *Food Sciences and Technology*, 34 (1).
- Gandjar, I.G., dan Abdul, R., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Gandjar, I.G., dan Abdul, R., 2010, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Gharavi, A., Neyestani, T.R., dan Khalaji, N., 2007, Black and Green Teas My Have Selective Synergistic or Antagonistic Effects on Certain Antibiotics Against *Streptococcus pyogenes* in Vitro, *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 16 (3)
- Gusrav, S., Deshkar, N., Gulkar, V., Duragkar, N., dan Patil, A., 2007, Free Radical Scavenging Activity of Polygala chinensis Linn, *Pharmacology*, 2
- Hanani, E., 2017, *Analisis Fitokimia*, Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern dan Menganalisis Tumbuhan*, Bandung: Penerbit ITB
- Hari, A., Renikumar., dan Divya, 2014, Artocarpus : A review of Its Phytochemistry And Pharmacology, *Journal of Pharma*, 9 (1)
- Herowaty, R., Rahman, E. K., Ketut, I. K., Nuraini, H., dan Tutus, G.K., 2008, Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin-3-monoasetat Hasil Asetilasi Selektif

Kuersetin, *Artocarpus*, 8 (2)

Hidayati, D.N., Ibrahim A., Yuni A., Amalina F., dan Nur K.A., 2017, Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Jantung Pisang Mas (*Musa Acuminata* Colla) Menggunakan Metode Dpph, *Pharmacy*, 14 (1)

Ide, P., 2008, *Dark Chocolate Healing*, Jakarta: Elex Media Komputindo.

Indrayani, S., 2008, Validasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Krim secara Kolorimetri dengan Pereaksi $AlCl_3$, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma

Indriyawati, N., 2015, Senyawa Fenolik dan Alginat dari Ganggang Coklat Sargassaceae IndoPasifik: Ekstraksi, Pemurnian, Kuantifikasi dan Aktivitas Senyawanya, *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015*. Malang

Indrowati, M., dan Harlita, 2007, Deteksi GABA pada ekstrak Daun Kluwih *Artocarpus altilis* sebagai pengendalian Diabetes, *Penelitian DIPA Kompetitif*.

Jagtap, U.B., and Bapat, V.A., 2010, *Artocarpus* : A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *Journal of Ethnopharmacology*, 129

Kelly, S.G, 2011, Quersetin, *Alternative Medicine Review*, 16 (2)

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2014, *Farmakope Indonesia* Edisi V, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Kementrian Kesehatan, 2018, *Riskesdas 2018*.

Kosasih, E.N., Setiabudhi, T., dan Heryanto, H., 2004, *Peranan Antioksidan pada Lanjut Usia*, Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia

Kumala, L.D., 2007, Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Discorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*), dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai bahan Pengawet Alami Kayu, *Skripsi*, Bandung : ITB

Kusuma, P., 2012, Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.), *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Aludin, Makassar

Lestari, A.B.S., Fudholi, A., Nugroho, A.K., dan Setyowati, E.P., 2015, The effect of Simplex Powder nHexane Purification on Asiaticoside Content, Free Radical Scavenging and Total Phenolic Content of Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) Ethanolic Extract, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*,

13 (1)

- Lindawati, N.Y., dan Sabilla H.M., 2020, Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6 (1)
- Lukmanto, 2015, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Kenari (*Camarium indicum* L.), *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember
- Maesaroh, K., Dikdik, K., Jamaludin, A.A., 2018, Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat, dan Kuersetin, *Chimica et Natura Acta*, 6 (20)
- Maravirnadita, H. A., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari Buah Belimbing Manis dengan Metode DPPH, *Skripsi*: Universitas Ahmad Dahlan
- Marcelinda, A., Ahmad, R., Prismawiryanti, 2016, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea sp*) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut, *Jurnal of Natural Science*, 5 (1)
- Mariana, L., Yayuk, A., dan Erin, R.G., 2013, Analisis Senyawa Flavoooid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*), *Chem Prog*, 6 (2)
- Marianne, dan Rosidah, 2012, Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan yang Berpotensi Sebagai Antidiabetes dengan Metode DPPH, *LAPORAN AKHIR*, Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara
- Marianne, Yuandani, dan Rosnani, 2011, Antidiabetic activity from ethanol extrate of kluwih's leaf (*Artocarpus camansi*), *Jurnal Natural*, 11 (2)
- Markham, 1988, *Cara Identifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kokasih Patmawinata, Bandung : Penerbit ITB
- Martysiak, D., Zurowska, Weronika, W., 2011, A Comparison of ABTS and DPPH Methods for Assessing the Total Antioxidant Capacity of Human Milk, *Journal of Food Chemistry, Technology, and Biotechnology*, 11 (1)
- Maulida, D., dan Naufal, Z., 2010, Ekatraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solvent Campuran, N-heksan, Aseton, dan Etanol, *Skripsi*, Universitas Diponegoro
- Mills, K. T.,B., Undy, J.D., Kelly, T.N., Reed, J.E., Kearney, P.M., Reynolds, K.He,

- J., 2016, Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control: A Systematic Analysis of Population-based Studies from 90 Countries, *Circulation*, 134 (6)
- Mirwan, A., dan Dannu, A., 2010, Dinamika Tetes Ekstraksi Cair-cair Sistem Air-Metil Keton (Mek)-Heksan dalam Kolom Isian, *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 9 (3)
- Molyneux, P., 2004, The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) For Estimating Antioxidant Activity, *Journal Science Technology*, 26 (2)
- Muchtadi, D., 2013, *Antioksidan & Kiat Sehat di Usia Produktif*, Bandung: Alfabeta
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7 (2)
- Mulja, M., dan Suherman, 1995, *Analisis Instrumen*, Cetakan 1, Surabaya: Airlangga University Press
- Muwaffaq, M., Q., 2013, Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak n-Heksana Lumut Hati *Mastigophora diclados* (Bird. Ex Web) Nees. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Nasution, R., Barus, T., Nasution, P., Saidi, N., 2014, Isolation and Elucidation of Steroid from Leaves of *Artocapus camansi* (Kulu) as Antidiabetic, *International Journal of PharmTech Research*, 6 (4)
- Nurhasnawati, H., Risa, S., dan Medina, P., 2017, Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Berdasarkan Ukuran Serbuk Simplisia, *Media Sains*, 10 (1)
- Nurjanah, L.I., dan Asadatun A., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*), *Ilmu Kelautan*, 16 (3)
- Orwa, C.A., Mutua., Kindt, R., Jamnadass, R., S., Anthony., 2009, Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>).
- Parwata, I.M., O.A., 2016, *Diktat/Bahan Ajar Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid*, Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Denpasar
- Plantamor. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=144>. diakses pada 15 Februari 2015

- Pakaya, Wilna, Netty I.I., Julhim S., dan Tangio, 2015, Analisis Kadar Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun dan Bunga Tembelean, *Jurnal Penelitian Gorontalo*, Universitas Negeri Gorontalo.
- Pratiwi, E., dan Harrizul, R., 2015. Pembuatan Dan Karakterisasi Ekstrak Air Herba Manian (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 3 (2)
- Pratiwi, L., Achmad, F., Ronny, M., dan Suwidjiyo, P., 2016, Ekstrak etanol, Ekstrak etil asetat, Fraksi etil asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas, *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1
- Pekal, A., dan Pyrzynska, K., 2014, Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay, *Food Anal. Methods*, 7
- Pulungan, dan Widad, U., 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) dengan Metode Pemerangkapan ABTS, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Simatera Utara, Medan
- Ragone, D., 2006, *Artocarpus camansi* (beradnut). ver. 2.1. In: Elevitch CR (ed.), Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawai'i.
- Rao, S.P., Kava, S., Yerramili, A., Mamidi, A., 2011, Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants, *Free Radicals and Antioxidants Journal*, 1 (4)
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerjemah: K. Padmawinata, Edisi IV, Bandung: ITB Press
- Rohman, A., 2014, *Spektroskopi Inframerah Dan Kemometrika Untuk Analisis Farmasi*, Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Rosidah, Yam, M.F., Sadikun, A., dan Asmawi, M.Z., 2008, Antioxidant Potential of *Gynura procumbens*, *Pharmaceutical Biology*, 46 (9)
- Rosdiana, A., dan Yuni, E.H., 2016, Review Artikel: Studi Pustaka Tentang Prosedur Kultur Sel, *Farmaka Suplemen*, 4 (1)
- Rukmi, I., 2009, Keanekaragaman *Aspergillus* pada Berbagai Simplisia Jamu Tradisional, *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*, 17 (2)
- Sastrohamidjojo, H., 2007, *Kromatografi*, Yogyakarta: UGM Press

- Sarker, S.D., Latif, Z., dan Gray, A., 2006., *Natural product Isolation*, 2nd ed, Totowa (New Jersey): Humana Press Inc
- Sayuti, K., dan Rina, Y., 2015, *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Padang: Andalas Univesity Press
- Septiani, R., 2017, Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dengan Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, *Skrips.*, Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Septiani, R., Marianne, Marline, N., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksan Serta Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (*Syzygium Cumini* L. Skeels) Dengan Metode Dpph, *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1 (2)
- Setiawan, F.O., Yunita, dan Kurniawan, A., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, *Media Pharm. Indones.*, 2 (2)
- Shalaby., Emand, A., dan Shanab, M.M., 2013, Comparison of DPPH and ABTS Assay for Determining Antioxidant Potential of Water and Methanol Extracts of Spirulina Platensis, *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, 42 (5)
- Simaremare, E.S., 2014, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb). Wedd), *Pharmacy*, 11 (1)
- Smejkal, K., dan Treml, J., 2016, Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15
- Snyder, C.R.J.J., Kirkland, dan J.L., Glajach., 1997, *Practical HPLC Method Development*, Second Edition, New York: John Wiley and Sons, Inc
- Soegihardjo, C.J., dan Indrowati, M., 2005, Biological Learning Material : Detection Of Flavonoid From The Leaf Of Jack Fruit (*Artocarpus altilis* Park), *Bioedukasi*, 2 (2)
- Subiyandono, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Camellia sinensis*, *Hibicus sabdariffa* dan *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Secara Spektrofotometri dengan DPPH, *Jurnal Poltekkes Depkes Palembang*, 3 (4)
- Sulastri, E.C.O., dan Yusriadi., 2015, Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan dan Uji Aktivitas Antioksidan, *Jurnal Pharmascience*, 2 (2)
- Tahir, 2009, *Dasar Kimia Analitik*, Jakarta: Universitas Indonesia

- Tenriugi, A.D.P., Alam, G., dan Attamin, F., 2008, Standarisasi Mutu Daun Gedi (*Albelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH (Jurnal), <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/d1043blce802ee8dbcb6f1dbb5626d55.pdf>
- Tian-yang., Wang., Qing, Li., dan Kai-shun, Bi., 2018, Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian, *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 13
- Tiwari., Kumar., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H., 2011, Phytopchemical Screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1)
- Towaha, J., dan Balittri, 2013, Kandungan Senyawa Kimia pada Daun The (*Camellia sinensis*), *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 19 (3)
- Vidak, Marko, Damjana, R., dan Radovan, K., 2015, Review Effect of Flavonoids From Food and Dietary Supplements On Glial and Glioblastoma Multiforne Cells, *Moleculers*, 20
- Voight, R., 1994, *Buku Pengantar Teknologi Farmasi*, Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press
- Wahyulianingsih., Selpida, H., dan Abd. M., 2016, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3 (2)
- Wedaswari, I.A.I., 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Metode Rancimat Dan Identifikasi Dengan Lc-Ms, *Skripsi*, Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Wicaksono, I.B., dan Ulfah M., 2017, Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Inovasi Teknik Kimia*, 2 (1)
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Alami*, Yogyakarta: Kanisius.
- Windyaswari, A.S., Maulana, S.S., dan Clara, S., 2015, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi Blanco*) Secara Kolorimetri, *Seminar Nasional Farmasi (SNIFA)*, UNJANI
- Wiradnyani, N.K., Ni Made, W., dan Bambang, A.H. M.P., 2014, Komposisi Senyawa Penyusun Minuman Sinom (*Curcuma domestica* Val.-*Tamarindus indiva* L.), *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 1 (1)

- Wismayanti, N., Yani, L., dan Esti, R.S., 2016, Identifikasi Flavonoid dalam Daun Kluwih (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg), *Prosiding Farmasi*, 2 (2)
- Wiwin, M.D., I Gusti, A.N.D, dan I Gede, B.S., 2015, Senyawa Pengkupling α -Nafthilamin Untuk Validasi Metode Spektrofotometri Penentuan Nitrit (NO₂⁻) Di Dalam Air, *Jurnal Kesehatan Prima*, 9 (1)
- Yanlinastuti, dan Syamsul, F., 2016, Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Panduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Majalah Ilmiah Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9 (17)