

**PENETAPAN KADAR DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK
DARI EKSTRAK DAN FRAKSI HERBA TIMI (*Thymus vulgaris* L.)**

**DETERMINATION AND CHARACTERIZATION OF PHENOLIC
CONTENT OF THYME HERBS (*Thymus vulgaris* L.) EXTRACT AND
FRACTIONS**

SKRIPSI



Oleh :

**IMAM NUR FIRDAUS
4171026**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PENETAPAN KADAR DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK
DARI EKSTRAK DAN FRAKSI HERBA TIMI (*Thymus vulgaris* L.)**

**DETERMINATION AND CHARACTERIZATION OF PHENOLIC
CONTENT OF THYME HERBS (*Thymus vulgaris* L.) EXTRACT AND
FRACTIONS**

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 :

**IMAM NUR FIRDAUS
4171026**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK
DARI EKSTRAK DAN FRAKSI HERBA TIMI (*Thymus vulgaris* L.)**


**DETERMINATION AND CHARACTERIZATION OF PHENOLIC
CONTENT OF THYME HERBS (*Thymus vulgaris* L.) EXTRACT AND
FRACTIONS**


Oleh:
IMAM NUR FIRDAUS
4171026

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 28 Agustus 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


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


apt. Diah Pratimasari, S. Farm., M. Farm.

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


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

Tim Penguji

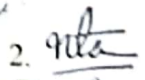
1 Nastiti Utami, S. Si., M. Sc.

Ketua Penguji

1. 

2 Prashinta Nita D., S. Si., M. Pharm. Sci.

Anggota Penguji

2. 

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

Anggota Penguji

3. 

4 apt. Diah Pratimasari, S. Farm., M. Farm.

Anggota Penguji

4. 

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut Nama Allah SWT

Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

“Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akhirat, maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu”

(HR. Turmudzi).

*“Tomorrow is a mystery, yesterday is a history, but now is a gift,
that’s why it’s called ‘the Present’”*

(Master Oogway)

*Karya ini saya persembahkan teruntuk Alm. Bapak dan Ibu tercinta, Mas Agus,
dan Mbak Dewi, serta Manggala yang selalu mengembalikan mood saya,
Saya ucapkan terimakasih terhadap teman-teman angkatan 2017 yang telah
menemani perjuangan*

HALAMAN PERNYATAAN

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

Surakarta, 18 Agustus 2021

Peneliti



(Imam Nur Firdaus)

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Penetapan Kadar dan Karakterisasi Senyawa Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Herba Timi (*Thymus vulgaris* L.)” sebagai salah satu syarat menyandang gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Apt. Hartono, M. Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. Apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc. selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi.
3. Apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc. dan Apt. Diah Pratimasari, S. Farm., M. Sc. selaku pembimbing yang telah membimbing penulis hingga mampu menyelesaikan Skripsi ini.
4. Nastiti Utami, S. Si., M. Sc. dan Prashinta Nita Damayanti, S. Si. M. Pharm. Sci. selaku tim penguji skripsi.
5. Keluarga yang selalu memberikan nasehat dan doa selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
6. Bapak dan Ibu Laboran yang membantu menyelesaikan skripsi.
7. Dosen dan Staf Karyawan Program Studi S1 Farmasi yang selalu memberikan dukungan motivasi dan semangat.
8. Pihak-pihak lain yang telah memberikan dukungan dan bantuan baik moral maupun material.

9. Damai, Diah, Dita, Nurul, Navietri, Ulfah, Nugroho, dan Izam yang telah membantu dalam memberikan semangat dalam penyelesaian skripsi ini
10. Teman-teman angkatan 2017 yang telah berjuang bersama-sama untuk menempuh gelar Sarjana Farmasi di STIKES Nasional.

Penulis menyadari bahwa terdapat kekurangan pada penyusunan skripsi ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan skripsi ini ke depannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan bernilai ibadah.

Surakarta, 7 Juli 2021

Imam Nur Firdaus

INTISARI

Tanaman timi (*Thymus vulgaris* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan fenolik yang banyak. Penelitian dilakukan dari ekstrak hingga fraksi sehingga akan terjadi distribusi senyawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik serta karakterisasi dari ekstrak dan fraksi herba timi.

Herba timi dimaserasi menggunakan etanol 70%, kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut, yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan uji pendahuluan menggunakan pereaksi FeCl_3 dan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KLT dengan fase gerak n-heksan : etil asetat : metanol (2:7:2), spektrofotometri UV-Vis dan FTIR. Penetapan kadar fenolik dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode folin-ciocalteu.

Uji pendahuluan sampel ekstrak dan fraksi-fraksi herba timi menunjukkan hasil positif dengan reagen FeCl_3 dan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Uji KLT menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun fraksi memiliki nilai R_f yang sama dengan standar baku yaitu 87.5. Identifikasi spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa timol, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki λ_{maks} yaitu 278 nm, 284 nm, 243 nm, 260 nm, 264 nm (senyawa polifenol 240 - 285 nm). Identifikasi FTIR menunjukkan bahwa sampel positif mengandung fenol karena memiliki gugus fungsi khas OH, CH alifatik, CH aromatis, C=O, C-O-C, C=C alifatik, dan C=C aromatis. Penetapan kadar fenolik yang terkandung didalam ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air berturut-turut sebesar $1.7660 \pm 0.0044 \%TE$; $0.3609 \pm 0.0011 \%TE$; $1.2218 \pm 0.0022 \%TE$; dan $2.2547 \pm 0.0022 \%TE$.

Kata kunci : Herba Timi, Fenolik, Folin-ciocalteu

ABSTRACT

Thyme herb (*Thymus vulgaris* L.) is a plant that has a lot of phenolic content. The research was carried out to the fraction stage so that the compound distribution would occur. This study aim to determine the phenolic content and characterization of the extract and fraction of thyme herb.

Thyme herbs were macerated using 70% ethanol, evaporated using a rotary evaporator, and then fractionated using three solvents, n-hexane, ethyl acetate and water. Identification of phenolic compound was carried out by tube test, TLC, UV-Vis spectrophotometry and FTIR. Determination of phenolic content was carried out using UV-Vis spectrophotometry using the Folin-Ciocalteu method.

The preliminary test of thyme herbs extract and fractions showed positive results with FeCl_3 and $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ reagents. The TLC test showed that the extract and the fraction had the same R_f value as the standard, 87.5. UV-Vis spectrophotometric identification showed that thymol, ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction have λ_{max} which is 278 nm, 284 nm, 243 nm, 260 nm and 264 nm (polyphenolic compounds 240 - 285 nm). FTIR identification shows that the sample is positive contains fenol because it has the typical functional groups of OH, aliphatic CH, aromatic CH, C=O, C-O-C, aliphatic C=C, and aromatic C=C. The result of the determination of the phenolic content contained in the ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction were $1.7660 \pm 0.0044 \%TE$; $0.3609 \pm 0.0011 \%TE$; $1.2218 \pm 0.0022 \%TE$; dan $2.2547 \pm 0.0022 \%TE$.

Keywords : Thyme herb, Phenolik, Folin-ciocalteu

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
PRAKATA	vi
INTISARI	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Timi (<i>Thymus vulgaris</i> L.)	4
1. Taksonomi Tanaman.....	4
2. Nama Lain.....	5
3. Morfologi Tanaman	5
4. Manfaat	6
5. Kandungan Kimia	6
B. Ekstraksi.....	7
C. Fraksinasi	8
D. Metode Penetapan Kadar Fenolik	9
E. Uji Pendahuluan.....	10

F. Kromatografi Lapis Tipis.....	11
G. Spektrofotometri UV-Vis.....	12
H. Spektrofotometri IR	14
I. Landasan Teori.....	15
J. Kerangka Konsep Penelitian	18
BAB III. METODE PENELITIAN	19
A. Desain Penelitian.....	19
B. Tempat dan Waktu Penelitian	19
C. Populasi dan Sampel	19
D. Definisi Operasional Variabel.....	20
E. Alat dan Bahan.....	20
F. Jalannya Penelitian.....	21
G. Analisis Hasil	27
H. Skema Jalannya Penelitian	30
BAB IV. PEMBAHASAN.....	31
A. Determinasi Tanaman Timi	31
B. Persiapan Sampel	31
C. Pembuatan Ekstrak dan Fraksi	32
D. Penapisan Fitokimia Fenolik.....	35
E. Identifikasi Kandungan Fenolik.....	36
F. Kadar Fenolik.....	53
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	58
A. Kesimpulan	58
B. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Herba Timi (<i>Thymus Vulgaris L.</i>)	4
Gambar 2. Senyawa Timol dan Karvakrol.....	7
Gambar 3. Reaksi Senyawa Fenolik dengan Reagen Folin Ciocalteu	10
Gambar 4. Reaksi Senyawa Fenol dengan $FeCl_3$	10
Gambar 5. Reaksi Senyawa Fenol dengan $K_2Cr_2O_7$	10
Gambar 6. Spektra UV-Vis Senyawa Fenol	16
Gambar 7. Bagan Kerangka Konsep.....	18
Gambar 8. Bagan Skema Penelitian.....	30
Gambar 9. Reaksi Senyawa Fenol dengan $FeCl_3$	35
Gambar 10. Reaksi Senyawa Fenol dengan $K_2Cr_2O_7$	36
Gambar 11. Profil KLT Sebelum Penyemprotan.....	37
Gambar 12. Profil KLT Setelah Penyemprotan	38
Gambar 13. <i>Peak</i> UV-Vis Standar Timol	39
Gambar 14. <i>Peak</i> UV-Vis Ekstrak Etanol Herba Timi	40
Gambar 15. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi N-Heksan Herba Timi	40
Gambar 16. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi Etil Asetat Herba Timi.....	41
Gambar 17. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi Air Herba Timi	41
Gambar 18. Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Herba Timi	43
Gambar 19. Spektrum FTIR Fraksi N-Heksan Herba Timi.....	45
Gambar 20. Spektrum FTIR Fraksi Etil Asetat Herba Timi	47
Gambar 21. Spektrum FTIR Fraksi Air Herba Timi.....	49
Gambar 22. Spektrum FTIR Standar Timol.....	51
Gambar 23. Reaksi Senyawa Fenolik dengan Reagen Folin-Ciocalteu.....	53
Gambar 24. Kurva Baku Timol.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Daerah Spektrum Spesifik Fenolik	17
Tabel 2. Organoleptis Ekstrak.....	33
Tabel 3. Hasil Rendemen	34
Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi	35
Tabel 5. Nilai hRf.....	38
Tabel 6. Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Herba Timi	42
Tabel 7. Spektrum FTIR Fraksi N-Heksan Herba Timi.....	44
Tabel 8. Spektrum FTIR Fraksi Etil Asetat Herba Timi.....	46
Tabel 9. Spektrum FTIR Fraksi Air Herba Timi.....	48
Tabel 10. Spektrum FTIR Standar Timol	50
Tabel 11. <i>Operating Time</i> Timol	54
Tabel 12. Kadar Fenolik Ekstrak dan Fraksi Herba Timi	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi	66
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Herba Timi	67
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Fraksi Herba Timi	68
Lampiran 4. Perhitungan KLT Nilai hRf	69
Lampiran 5. Perhitungan Bahan.....	70
Lampiran 6. Kurva Baku Timol.....	72
Lampiran 7. Kadar Fenolik Ekstrak Herba Timi	73
Lampiran 8. Kadar Fenolik Fraksi N-Heksan Herba Timi	75
Lampiran 9. Kadar Fenolik Fraksi Etil Asetat Herba Timi.....	77
Lampiran 10. Kadar Fenolik Fraksi Air Herba Timi	79
Lampiran 11. <i>Operating Time</i> (OT) Timol.....	81
Lampiran 12. Panjang Gelombang Maksimum Timol.....	82
Lampiran 13. <i>Peak</i> UV-Vis Ekstrak Etanol Herba Timi	83
Lampiran 14. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi N-Heksan Herba Timi.....	84
Lampiran 15. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi Etil Asetat Herba Timi	85
Lampiran 16. <i>Peak</i> UV-Vis Fraksi Air Herba Timi.....	86
Lampiran 17. Dokumentasi.....	87

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di gugus aromatik. Terdapat lebih dari 8.000 jenis senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Anggota senyawa fenolik mulai dari yang paling sederhana dengan berat molekul yang kecil, hingga senyawa kompleks dengan berat molekul lebih dari 30.000. Semua bagian tanaman (batang, akar, daun, kulit, buah, biji) mengandung senyawa fenolik yang merupakan hasil metabolisme sekunder (metabolit) dari tanaman. Kandungan senyawa fenolik dalam buah-buahan dan sayur-sayuran mulai diminati oleh para peneliti karena senyawa fenolik memiliki sifat antioksidan dan dapat menyembuhkan jantung koroner dan kanker (Haryanto, B., & Kristanto, V., 2018). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenolik adalah herba timi.

Herba timi (*Thymus vulgaris* L.) adalah salah satu tanaman yang memiliki kandungan fenolik yang banyak dan dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Senyawa fenolik utama yang terdapat dalam herba timi adalah senyawa timol (Alizadeh, 2013). Selain itu, herba timi juga telah diteliti mengandung minyak atsiri, carnosol, rosmanol, asam ursolat, polisakarida, glikosida asetofenon, dan asam oleanolat (Bone & Mills, 2013; el habasil *et al*, 2008). Senyawa metabolit sekunder yang terdapat

dalam herba timi dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis seperti antioksidan (alizadeh, 2013), antibakteri (elkader dan mohamed, 2012), antiseptik, antispasmodik, ekspektoran dan karminativ (omidbigi dan nejad, 2000).

Penelitian Widihastuti (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba timi memiliki kadar fenolik total sebanyak $154,091 \pm 11,606$ mg GAE/g sampel ekstrak. *Bioassay guidance fractionation* menuntun penelitian di bidang penelitian obat untuk dapat menggali lebih lanjut senyawa aktif bahan alam. Salah satu tahapan dalam *bioassay guidance fractionation* adalah proses pemisahan ekstrak dari senyawa yang tidak disajikan yang bisa disebut dengan proses fraksinasi (Hajiagha, *et al*, 2016).

Proses fraksinasi dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda sehingga dapat mengakibatkan terjadinya distribusi senyawa berdasarkan tingkat polaritasnya. Oleh karena itu, maka perlu dianalisis karakterisasi senyawa fenolik pada tiap-tiap fraksi secara kualitatif maupun kuantitatif. Identifikasi kualitatif ditetapkan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan IR. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengetahui puncak khas dan panjang gelombang maksimum dari sampel yang diuji (Irawan, A., 2019). Spektrofotometri IR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi fenol berdasarkan *peak* yang dihasilkan (Suarsa, 2016).

Penetapan kuantitatif terhadap senyawa fenolik dilakukan menggunakan metode folin-ciocalteu, hal ini dikarenakan pereaksi folin-

ciocalteu memiliki kelebihan sederhana dan cepat, serta absorpsi dari kromofor berada di panjang gelombang tinggi sehingga dapat mengurangi gangguan dari matriks sampel (Blainski, *et al*, 2013).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa kadar senyawa fenolik pada masing-masing ekstrak dan fraksi herba timi (*Thymus vulgaris* L.)?
2. Bagaimana profil senyawa fenolik dari ekstrak dan fraksi herba timi (*Thymus vulgaris* L.) menggunakan kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis, dan FTIR?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar senyawa fenolik pada masing-masing ekstrak dan fraksi herba timi (*Thymus vulgaris* L.).
2. Mengetahui profil senyawa fenolik dari ekstrak dan fraksi herba timi (*Thymus vulgaris* L.) menggunakan kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis, dan FTIR.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan pengetahuan mengenai gambaran kandungan senyawa fenolik dari ekstrak dan berbagai fraksi herba timi (*Thymus vulgaris* L.)
2. Menambah sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian deskriptif.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2020 sampai April 2021 di Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintetis Obat STIKES Nasional.

C. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah herba timi yang berasal dari tanaman timi yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) di Jl. Raya Lawu KM 11, Tawangmangu, Kalisoro, Karanganyar, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia herba timi dari tanaman timi yang tumbuh dari tanaman budidaya, diperoleh dari B2P2TOOT di Jl. Raya Lawu KM 11, Tawangmangu, Kalisoro, Karanganyar, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

D. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol herba timi adalah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi simplisia herba timi dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol.
2. Fraksi herba timi merupakan hasil pemisahan dengan metode partisi cair-cair menggunakan alat corong pisah berdasarkan prinsip perbedaan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan, yaitu n-heksan, etil asetat dan air.
3. Kadar fenolik merupakan kadar yang diketahui dari perhitungan persamaan hukum Lambert-Beer, dimana kadar fenolik dalam sampel (X) diketahui setelah absorbansi sampel (Y) dimasukkan ke dalam persamaan. Satuan kadar fenolik yang dihasilkan adalah mg/g sampel.
4. Identifikasi senyawa fenolik merupakan identifikasi dari ekstrak dan fraksi yang didapat dari hasil kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV dan FTIR.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari oven (MEMMERT), blender (PHILLIPS), bejana maserasi, neraca analitik (MATRIX), gelas beker (PYREX), pipet ukur (PYREX), micro pipet (DRAGONLAB), spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU), spektrofotometri IR (THERMO), kuvet (SHIMADZU), silika GF₂₅₄ (MERCK), chamber,

penutup chamber, corong pisah (PYREX), corong (PYREX), *rotary evaporator* (IKA), *moisture balance*.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba timi, etanol 70% (teknis), n-heksan (teknis), etil asetat (teknis), akuades (teknis), timol pa (Merck), FeCl₃ (pa), K₂Cr₂O₇ P pa (Merck), Na₂CO₃ pa (Merck), KBr pa (Merck) dan reagen folin-ciocalteu pa (Merck).

F. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman timi

Langkah pertama yaitu memastikan kebenaran tanaman timi berkaitan dengan ciri-ciri morfologisnya pada tanaman timi. Tanaman timi akan dideterminasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT).

2. Persiapan bahan

Simplisia herba timi diperoleh dari B2P2TOOT di Jl. Raya Lawu KM 11, Tawangmangu, Kalisoro, Karanganyar, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah yang selanjutnya dibuat serbuk dengan menggunakan blender (Wibisono dkk., 2020).

3. Pembuatan ekstrak etanol herba timi

Ekstraksi dilakukan dengan mengekstrak 500,0 g serbuk herba timi kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi dengan perbandingan pelarut 1:10 yaitu untuk 1 bagian simplisia diekstraksi dengan 10 bagian pelarut dan dilakukan selama 5 hari. Maserasi dilakukan dengan merendam 500,0 g simplisia di dalam 3,75 liter (7,5 bagian) etanol 70% yang dilakukan selama 3 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserat disaring dengan menggunakan kain flanel. Residu dilakukan remaserasi dengan menggunakan 1,25 liter (2,5 bagian) etanol 70% dan didiamkan selama 2 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserat maserasi dan remaserasi dicampur dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan kecepatan 200 rpm dengan suhu 50°C dan dilanjutkan dengan Waterbath hingga menjadi ekstrak kental (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

4. Pembuatan fraksi herba timi

a. Pembuatan fraksi n-heksan herba timi

Ekstrak etanol dipekatkan dan ditimbang seksama 50,0 g, dilarutkan dalam air hangat 50,0 ml sampai larut dan difraksinasi dengan n-heksan 50,0 ml dengan menggunakan corong pisah, digojog sambil sesekali gas dikeluarkan, kemudian fraksi n-heksan dipisahkan (Maravimadita, 2019). Fraksi terlarut n-heksan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40°C (Darwiati, 2013).

b. Pembuatan fraksi etil asetat herba timi

Residu sisa fraksinasi n-heksan ditambahkan etil asetat sebanyak 50.0 ml (perbandingan 1:1) difraksinasi menggunakan corong pisah digojog sambil sesekali gas dikeluarkan, kemudian fraksi etil asetat dipisahkan (Maravimadita, 2019). Fraksi terlarut etil asetat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40°C (Darwiati, 2013). Residu sisa fraksinasi etil asetat disebut fraksi air (Maravimadita, 2019).

5. Identifikasi Kualitatif Senyawa Fenolik

a. Identifikasi pendahuluan

1) Uji FeCl_3

Sebanyak 1,0 ml ekstrak dan fraksi ditambahkan larutan ferri (III) klorida 1%. Terbentuk warna biru tua hingga hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan fenolik. Sebanyak 1,0 ml larutan timol (kontrol positif) dan sebanyak 1,0 ml akuades (kontrol negatif) masing-masing ditambahkan larutan ferri (III) klorida 1% (Purgiyanti dkk., 2019).

2) Uji kalium dikromat pekat

Pada ekstrak dan fraksi ditambahkan larutan kalium dikromat pekat, terbentuknya endapan berwarna kuning menunjukkan adanya senyawa fenolik. Sebanyak 1,0 ml larutan timol (kontrol positif) dan sebanyak 1,0 ml akuades (kontrol

negatif) masing-masing ditambahkan larutan kalium dikromat pekat (Krishnaveni dkk, 2016).

b. Identifikasi senyawa fenolik dengan KLT

Ekstrak etanol 70% dan pembanding (timol) yang telah dilarutkan dengan etanol 70%, ditotolkan bersama-sama pada lempeng fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat : metanol (2:7:2). Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, diamati bercak pada lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm dengan penampak bercak feri (III) klorida. Hasil positif fenolik jika noda berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Ayu dkk., 2019).

c. Identifikasi senyawa fenolik dengan spektrofotometri UV-Vis

Ekstrak dan fraksi masing-masing ditimbang 15 mg dilarutkan dengan 6 mL metanol dan dilarutkan hingga homogen. Penentuan identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan cara melakukan pembacaan panjang gelombang dari 190 nm hingga 400 nm. Penyapuan ini akan diperoleh panjang gelombang yang memberikan spektrum optimum. Spektrum yang diberikan merupakan karakteristik dari unsur yang dianalisis (Putra dkk, 2019).

d. Identifikasi senyawa fenolik dengan spektrofotometri IR

Sampel sebanyak 1 mg digerus dengan 100 mg kalium bromida. Campuran dikempa dengan kekuatan 10 ton/cm sehingga

terbentuk sebuah pellet yang tipis dan transparan. Langkah selanjutnya diukur serapannya (Rivai dkk, 2010).

6. Penetapan kadar fenolik

a. Pembuatan reagen untuk penetapan kadar fenolik

1) Pembuatan larutan Na_2CO_3 7%

Ditimbang seksama 7,0 gram serbuk Na_2CO_3 dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas (Widihastuti, E., 2011).

2) Pembuatan larutan blangko

200,0 μl reagen Folin-Ciocalteu ditambah 2,0 ml Na_2CO_3 7% dalam labu ukur 5 ml. Larutan tersebut ditambahkan larutan Aquadest hingga tanda batas (Widihastuti, E., 2011).

b. Preparasi larutan baku timol

Pembuatan larutan baku induk timol dilakukan dengan melarutkan 100,0 mg timol ke dalam akuades menggunakan labu takar 100 mL hingga menghasilkan konsentrasi 1000 ppm (Widihastuti, E., 2011).

c. Penentuan *operating time*

Larutan baku 1000 ppm dipipet sebanyak 75,0 μL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan tersebut direaksikan dengan 200,0 mL Folin-ciocalteu, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,0 ml Na_2CO_3 dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan akuades. Campuran tersebut

dikocok dan diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 750 nm (Rollando, dkk., 2018) setiap 1 menit sampai dengan 30 menit dan diamati kapan larutan tersebut mulai menghasilkan absorbansi yang stabil yang akan digunakan sebagai *operating time* (Widihastuti, E., 2011).

d. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan baku 1000 ppm dipipet sebanyak 75.0 μL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan tersebut direaksikan dengan 200,0 mL Folin-ciocalteu, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,0 ml Na_2CO_3 dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan akuades. Larutan tersebut dilakukan inkubasi selama waktu *operating time*. Larutan diukur panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer visibel pada rentang 400-800 nm (Widihastuti, E., 2011).

e. Pembuatan kurva baku timol

Larutan baku 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm dan 50 ppm, dengan cara masing-masing dipipet sebanyak 50,0 μl ; 100,0 μl ; 150,0 μl ; 200,0 μl ; dan 250,0 μl dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan tersebut direaksikan dengan 200,0 mL Folin-ciocalteu, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,0 ml Na_2CO_3 dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan akuades. Larutan dilakukan inkubasi selama waktu *operating time*. Larutan diukur panjang

gelombang maksimum dan didapat kurva kalibrasi timol serta persamaan garis linear $y = bx + a$ (Widihastuti, E., 2011).

f. Penetapan kadar fenolik

Ekstrak dan fraksi herba timi masing-masing ditimbang 10,0 mg dilarutkan dalam 10,0 mL akuades. Larutan stok diambil sebanyak 500,0 μ L dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan direaksikan dengan 200,0 mL Folin-ciocalteu, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,0 ml Na_2CO_3 dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan akuades. Larutan tersebut dilakukan inkubasi selama waktu *operating time*. Larutan diukur panjang gelombang maksimum sebanyak tiga kali pengukuran dan diambil rata-ratanya (Widihastuti, E., 2011).

G. Analisis Hasil

1. Perhitungan rendemen

Ekstrak dan fraksi kental yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya dengan rumus:

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

2. Identifikasi kualitatif senyawa fenolik

Ekstrak dan fraksi herba timi dianalisis dengan reaksi tabung, KLT dan spektrofotometri UV-Vis. Herba timi dengan penyemprot FeCl_3 yang memberikan warna positif fenolik jika noda berwarna hijau

kehitaman atau biru (Supomo dkk, 2019). Hasil spektroskopi UV-Vis dianalisis puncak serapannya. Senyawa fenolik memiliki karakteristik absorbansi pada panjang gelombang 270 nm (Suhartati, 2007; & Chairuksa dkk, 2011). Hasil spektroskopi IR dianalisis posisi spektrum yang memiliki satuan cm^{-1} . Jenis ikatan khas fenolik yang dapat ditunjukkan pada daerah serapan $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ dengan serapan melebar (-OH), dibuktikan dengan adanya serapan C-O di dekat $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, serapan medium dan kuat C=C pada daerah $1650\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ membuktikan adanya cincin aromatik, dibuktikan dengan adanya C-H di sebelah kiri 3000 cm^{-1} (Suarsa, 2016).

3. Perhitungan regresi linear senyawa fenolik

Kadar fenolik dihitung menggunakan persamaan regresi linear berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis, dan didapatkan data slope (b) dan intersep (a).

$$y = bx + a$$

Keterangan

y = absorbansi sampel

x = konsentrasi sampel

b = slope

a = intersep

Data absorbansi sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear sebagai y, sehingga diperoleh x sebagai konsentrasi kandungan senyawa fenolik di dalam sampel yang diuji.

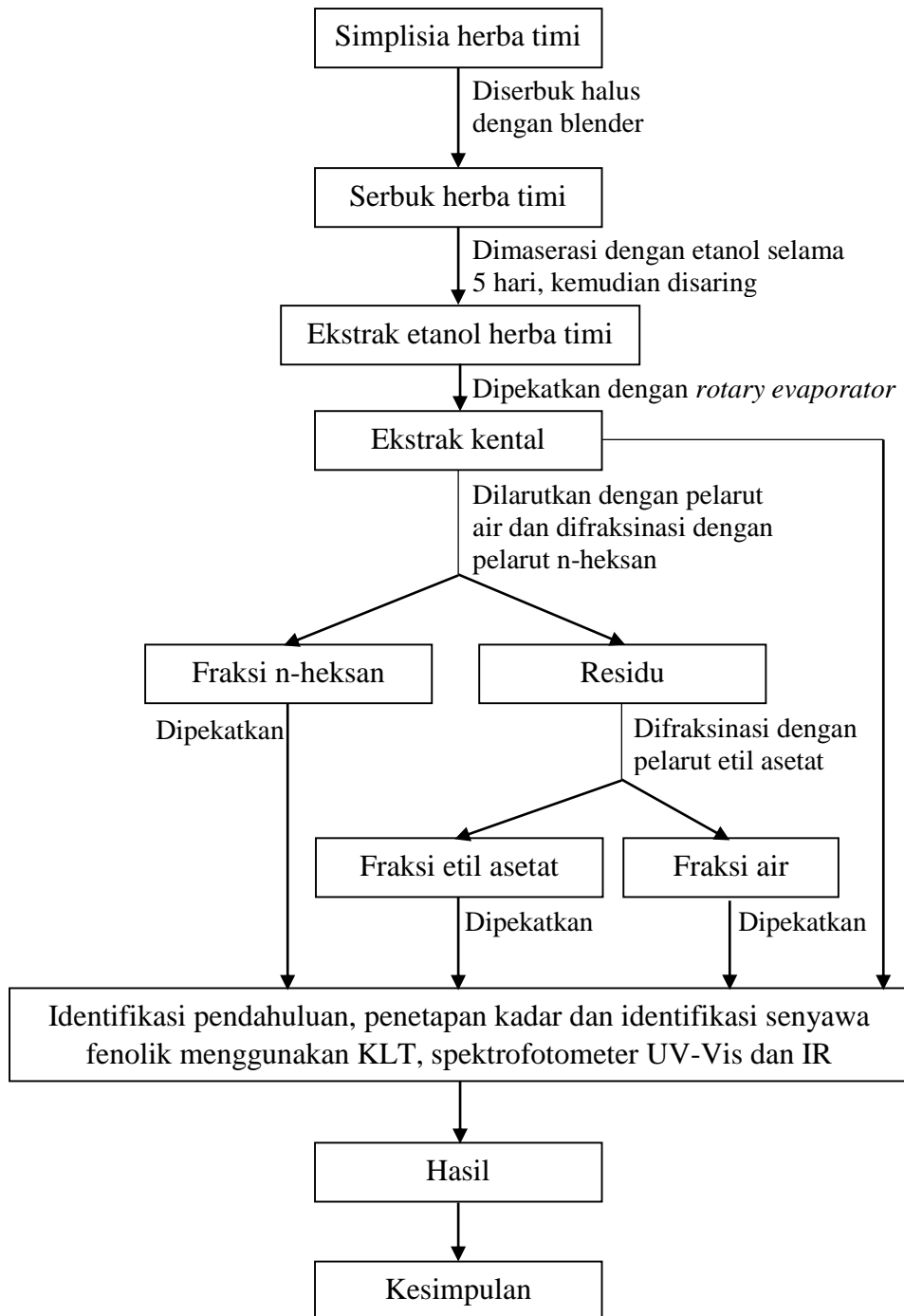
Hasil merupakan rata-rata pengukuran dan dinyatakan dengan kesetaraan larutan standar fenolik menggunakan baku pembanding timol.

4. Perhitungan %KV

Kadar yang dihasilkan kemudian dihitung %KV dengan menggunakan rumus :

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

H. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 8. Bagan skema penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kadar fenolik rata-rata dari ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air herba timi berturut-turut sebesar 1.7660 ± 0.0044 %TE; 0.3609 ± 0.0011 %TE; 1.2218 ± 0.0022 %TE; dan 2.2547 ± 0.0022 %TE.
2. Profil senyawa fenolik dari ekstrak dan fraksi herba timi terdapat noda pada uji KLT dengan nilai R_f yang sama yaitu 87.5, memiliki puncak *peak* dengan yang teridentifikasi sebagai polifenol dan memiliki gugus fungsi OH, CH alifatik, CH aromatis, C=O, C-O-C, C=C alifatik dan C=C siklik pada FTIR.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut lagi tentang kandungan fenolik herba timi dari berbagai tempat yang dapat dimungkinkan perbedaan jumlah kandungan fenolik di dalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhsanita, M, 2012, Uji Sitotoksik Ekstrak, Fraksi, dan Sub-Fraksi Daun Jati (*Tectoma grandis* Linn. f.) dengan Metoda *Brine Shrimp*, Skripsi, Universitas Andalas, Padang.
- Alizadeh, A., *et al.* 2013. Essential Oil Composition, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Fungal Properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp *daenensis* Celak. as in Influenced by Ontogenetical Variation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16:1, 59-70.
- Amamra, S., Cartea, M. E., Belhaddad, O. E., Soengas, P., Baghiani, A., Kaabi, I., dan Arrar, L. 2018. Determination of Total Phenolic Contents, Antioxidant Capacity of *Thymus vulgaris* Extracts using Electrochemical and Spectrophotometric Methods. *International Journal of Electrochemical Science*, Vol. 13 : 7882 – 7893.
- Astuti, V. Y., 2004, Aktivitas Antifungus Minyak Atsiri Herba Timi (*Thymus vulgaris* L.) terhadap *Candida albicans* secara In Vitro, Skripsi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Ayu, S. I., Pratiwi, L., dan Nurbaeti, S. N. 2019. Uji Kualitatif senyawa Fenol dan Flavonoid dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesehatan*.
- Balasundram, N., Sundram, K., dan Samman, S. 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial by-Products : Antioxdant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*. 99 : 191-203.

- Blainski, A., Lopes, G. C., dan Palazzo de Mello, J. C. 2013. Application and Analysis of the Folin-Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 18 : 6852-6865.
- Bone, K., & Mills, S., 2013, *Principles and Practice Phytotherapy – Modern Herbal*, Medicine Second Edition, Churchill Livingstone, United State of America.
- Bunaciu, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Fleschin, S. 2011. Recent Applications of Fourier Transform Infrared Spectrophotometry in Herbal Medicines Analysis. *Appl. Spectrosc. Rev.*, 46: 251-260.
- Chairuksa, A., & Phiyanalimat, S. 2011. Studies on Phenol Photoconversion by Ag/TiO₂ Photocatalyst. *TIZhE International Conference*, 27.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York.
- Darwiati, W. 2013. Bioaktivitas Tiga Fraksinasi Ekstrak Biji Suren Terhadap Mortalitas Hama Daun *Eurema spp.* *Jurnal penelitian Hutan Tanaman*, Vol. 10, No. 2 : 99-108.
- Depkes, 2011, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I Suplemen II*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- El Kader, M. A. A. & N. Z. Mohamed. 2012. Evaluation of Protective and Antioxidant Activity of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Extract on Paracetamol-Induced Toxicity in Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6 (7): 467-474.

- Erfiani. 2014. Pendekatan Regresi Linier untuk Pereduksian Data Keluaran *Fourier Transform Infrared* (FTIR). *ISSN : 1441 – 5891, Vol. 4 (2)*.
- Furqan, M., 2018, Isolasi Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fenolik Total dari Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.), *Tesis*, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Hapsari, A. M. 2018. Pengujian Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Tropical Medicine*, Vol. 1 Issue 1 : 284-290.
- Hajiagha, M. N., Aliahmadi, A., Taheri, M. R., Ghassempour, A., Irajian, G., Rezadoost, H., dan Feizabadi, M. M. 2016. A Bioassay-Guided Fractionation Scheme for Characterization of New Anti-Bacterial Compounds from *Prosopis cineraria* aerial Parts. *Iranian Journal of Microbiology*, Vol. 8 (1) : 1-7.
- Haryanto, B. & Kristanto, V., 2018, Optimasi Ekstraksi Senyawa Fenolik Kulit Jeruk Purut dengan Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*, *Skripsi*, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Irawan, A. 2019. Kalibrasi Spektrofotometer sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, Vol 1 (2) : 1-9.
- Isnawati, A., Raini, M., dan Alegantina, S. 2016. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L)) dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*, XVI, No. 2 : 1-6.
- Kate, D. I., 2014, Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-PikrilHidrazil*) Ekstrak

Metanolik Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hallier f.), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Kowalski, R., dan Kowalska, G. 2015. Phenolic Acid Contents in Fruits of Aubergine (*Solanum melongena* L.). *Journal of Food Engineering*, Vol. 71, Issue 2 : 37 – 41.

Kumalasari, A., Panggabean, A. S., Akkas, E. 2017. Pengembangan Metode Rapid Test dalam Penentuan *Ash Content* dan *Calorific Value* Batubara di Laboratorium PT Jasa Mutu Mineral Indonesia. *Jurnal Atomik*, 02 (1), hal 121-127.

Lapornik, B., Prosek, M., dan Wondra, A. G. 2015. Comparison of Extracts Prepared from Plant by-Product using Different Solvents and Extraction Time. *Journal of Food Engineering*, Vol. 71, Issue 2 : 214-222.

Mahdi, S. M. A., 2019, Optimasi Ekstraksi Herba Timi (*Thymus vulgaris* L.) dengan Respon Kadar Senyawa Timol Berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM), *Skripsi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Maravimadita, A. H., 2019, Uji Aktivitas Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola*) dengan Metode DPPH, *Naskah Publikasi Universitas Ahmad Dahlan*, 14 (3), 21.

Mukhriani, T. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, Vol. 7 No. 2.

Nacz, M. & Shahidi, F. 2006. Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables : Occurrence, Extraction and Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 : 1523-1542.

- Nateqi, M., dan Mirghazanfari, S. M. 2018. Determination of Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antifungal Effect of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi*, and *Trigonella foenum-graecum* Extract on Growth of *Fusarium solani*. *Cellular and Molecular Biology*, Vol. 64, Issues 14 : 38-46.
- Noviarty, dan Anggraini, D. 2013. Analisis Neodimium Menggunakan Metoda Spektrofotometri UV-Vis. *ISSN 1979-2409*. No. 11/Tahun VI.
- Omidbigi, R. & R. A. Nejad. 2000. The Influence of Nitrogen Fertilizer and Harvested Time on The Productivity of *Thymus vulgaris* L. *Inter. J. Horti. Sci.* 6 (3): 43-46.
- Purdiyanti, dkk. 2019. Penentuan Kadar Fenol Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dan Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). *P-ISSN : 2089-5315*. Vol. 8 No. 2 : 40-45.
- Ramchoun, M., *et al.* 2009. Study on antioxidant and hypolipidemic effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus vulgaris* and *Lavendula multifida*. *Pharmacognosy Research*. Vol I, issue 3, 106-112.
- Rollando dan Monica Eva. 2018. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). *SCIENTIA Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 8 (2) : 29 – 36.
- Rondonuwu, S. D. J., Suryanto, E., dan Sudewi, S. 2017. Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Pelarut Sagu Baruk (*Arenga microcharpa*). *Chem. Prog.*, Vol. 10, No. 1 : 29-32.

- Sembiring, B. B., dan Manoi, F. 2014. Teknik Pelayuan dan Penyulingan Untuk Menghasilkan Minyak Timi Berkualitas. *ISBN 978-602-70530-0-7, hlm. 404-408.*
- Sharafzadeh, S., Alizadeh, O., dan Vakili, M. 2011. Effect of Nitrogen Sources and Level on Essential Oil Components of *Thymus vulgaris* L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(10): 885-889.
- Suarsa, I W., 2016, Analisis Gugus Fungsi Pada Bensin Dengan Spektrofotometri Infra Merah, *Karya Tulis*, FMIPA Universitas Udayana, Denpasar.
- Suhartati, T., & Yandri, A. S. 2007. Sikloartobilosanton dari Kulit Batang dan Flavonoid Dalam Beberapa Bagian Tumbuhan *Artocarpus dadah* yang Tumbuh di Lampung. *J. Sains MIPA, edisi khusus*, Vol. 13, No. 2, Hal. 82-86.
- Suhendi, A., Sjahid, L. R., dan Hanwar, D. 2011. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia unifora* L.). *Pharmakon*, Vol. 12, No. 2 : 73-81.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., dan Wiadnyani, A. A. I. S. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, Vol. 8, No. 1, 27-35.
- Sulistiyani, M. & Huda, N. 2017. Optimasi Pengukuran Spektrum Vibrasi Sampel Protein Menggunakan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6 (2): 173-180.
- Supomo, Warnida, H., dan Sahid, B. M. 2019. Perbandingan Metode Ekstraksi Ekstrak Umbi Bawang Rambut (*Allum chinense* G.Don) Menggunakan

- Pelarut Etanol 70% Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, Vol. 1, No. 1 : 30-40.
- Tomas-Barberan, F. A., Gil, M. I., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. dan Kader, A. A. 2000. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *J. Agric. Food Chem*, 48 : 4581-4589.
- Umah, K. A., 2017, Optimasi dan Formulasi Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Glimepirid Menggunakan Fase Minyak Myritol 318, Surfaktan Tween 80, dan Ko-Surfaktan PEG 400, *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Utami, S., Widiyantoro, A., dan Jayuska, A. 2016. Karakterisasi Senyawa Fenolik dari Fraksi Metanol Bunga Nusa Indah (*Mussaenda erythrophylla*). *JKK*, Vol 06 (4), hal. 83-88.
- Wibisono, Y., Izza, N., Savitri, D., Dewi, S. R., dan Putranto, A. W. 2020. Ekstraksi Senyawa Fenolik dari Bawang Putih (*Allium sativum* L.) untuk Agen Anti-Biofouling pada Membran. *JRPB*, Vol. 8, No. 1 : 100-109.
- Wicaksono, I. B., dan Ulfah, M., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *J. Inovasi Teknik Kimia*, Vol. 2, No. 1 : 44-48.
- Widiastuti, dan Aini, F. 2017. Penetapan Kadar Besi (Fe) pada Bayam Hijau, Bayam Raja, dan Bayam Duri di Pasar Mojonongo, *Caraka Tani XXIII* (1) : 25 – 29.

- Widihastuti, E., 2011, Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Serta Korelasinya Dengan Kadar Fenolik Pada Lima Jenis Herba Bahan Obat Alam Indonesia, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Wijayanti, C. N. S., 2019, Validasi Metode Analisis *High Performance Liquid Chromatography* Fase Terbalik Pada Penetapan Kadar Piperin dalam Ekstrak *Piper nigrum Linn.*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Wulandari, L., 2011, *Kromatografi Lapis Tipis*, 1-10, PT. Taman Kampus Presindo, Jember.
- Yoshihara, D., Fujiwara, N., dan Suzuki, K. 2010. Antioxidants : Benefits and Risks for Long-Term Health, *Maturitas*, Vol. 67, Issue 2 : 103-107.
- Yuliana, T. 2011. Isolasi dan Pemurnian Wedelolakton dari Tumbuhan Urang Aring (*Eclipta alba* L. Hassk). *JKTI*, Vol. 15, No. 1 : 1-7.
- Ziylan, A., Dogan, S., Agopcan, S. *et al.* 2014. Sonochemical degradation of diclofenac: by product assessment, reaction mechanisms and environmental considerations. *Environ Sci Pollut Res*, 21, 5929-5939.