UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Saurapus androgynus* (L) Merr) DENGAN METODE ABTS SERTA PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL

SKRIPSI

oleh:

Muhamad Joko Susilo

165010032

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS WAHID HASYIM

SEMARANG

Agustus 2020

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Saurapus androgynus* (L) Merr) DENGAN METODE ABTS SERTA PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim

oleh:
Muhamad Joko Susilo
165010032

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Agustus 2020

INTISARI

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Saurapus androgynus* (L) Merr) DENGAN METODE ABTS SERTA PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL

Penyakit degeneratif, seperti tekanan darah tinggi dan diabetes melitus dapat dipicu oleh radikal bebas. Senyawa flavonoid sebagai antioksidan dapat mengikat radikal bebas sehingga dapat membantu menyembuhkan penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat estrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) menggunakan metode ABTS (2,2'azobis*(3-ethylbenthiazoline-6-sulfonicacid)*) dan penetapan kadar flavonoid totalnya.

Serbuk simplisia daun katuk diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental kemudian difraksinasi dengan pelarut etil asetat dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya fraksi etil asetat diuji aktivitas antioksidan menggunakan senyawa ABTS dan penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri yang dibaca pada spektrofotometri UV-Vis kemudian hasil dihitung dengan persamaan regresi linear.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 38,09 ppm serta mengandung flavonoid total sebesar 10,31 mgQE/gram. Fraksi etil asetat daun katuk memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

Kata kunci : Antioksidan, Flavonoid total, Daun katuk, Fraksi etil asetat, ABTS

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE FRACTION OF KATUK LEAF (Saurapus androgynus (L) Meer) ETHANOL EXTRACT USING ABTS METHOD AND DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID LEVELS

Degenerative diseases, such as high blood pressure and diabetes mellitus can be triggered by free radicals. Flavonoid compounds as antioxidants can bind to free radicals so they can help cure degenerative diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of katuk leaf ethanol (Saurapus androgynus (L) Merr) using the ABTS method (2,2'azobis (3-ethylbenthiazoline-6-sulfonic acid)) and determination of total flavonoid levels.

Katuk leaves simplisia powder was extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent. The macerate was concentrated using a rotary evaporator until a thick extract was obtained and then fractionated with ethyl acetate solvent and evaporated until a thick extract was obtained. Furthermore, the ethyl acetate fraction was tested for antioxidant activity using ABTS compounds and the determination of total flavonoid levels using the colorimetric method read on UV-Vis spectrophotometry and the results were calculated by the linear regression equation.

The results showed that the ethyl acetate fraction of the ethanol extract of katuk leaves had an antioxidant activity with an IC50 value of 38.09 ppm and contained a total flavonoid of 10.31 mgQE / gram. The ethyl acetate fraction of katuk leaves has very strong antioxidant activity.

Keywords: Antioxidants, total flavonoids, katuk leaves, ethyl acetate fraction, ABTS

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Saurapus androgynus* (L) Merr) DENGAN METODE ABTS SERTA PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL

oleh:
Muhamad Joko Susilo
165010032

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal: 5 Agustus 2020

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
(Dr. apt. Sumantri, M.Sc.)	(apt. Junvidya Heroweti, S. Farm., M.P.H)

Mengetahui:
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan,

(apt. Agnes Budiarti, SF., M.Sc)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhamad Joko Susilo

NIM : 165010032

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) dengan Metode ABTS serta Penetapan Kadar Flavonoid Total.

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya 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 skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 10 Juni 2020

Muhamad Joko Susilo

" Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda–tanda bagi orang yang berakal." (Q.S. Ali Imron ; 190)

Kupersembahkan untuk:
Kedua orang tua sebagai wujud hormat dan baktiku atas segala doa, kesabaran dan perjuangannya dalam membiayai kuliahku
Kakak dan adikku tercinta atas pemberian semangat
Almamater sebagai wujud terima kasih dan khidmahku

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah swt atas segala karunia, nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul " Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) dengan Metode ABTS serta Penetapan Kadar Flavonoid Total". Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat untuk dapat menyelesaikan program study farmasi strata 1 (S1) difakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang sudah membimbing, mengarahkan dan memberi semangat serta dukungan jalannya penelitian sampai penyusunan skripsi. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu apt. Aqnes Budiarti, SF., M.Sc. selaku dekan fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
2. Bapak Dr. apt. Sumantri, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasihat, motivasi dan semangat dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
3. Ibu apt. Junvidya Heroweti, S.Farm., M.P.H. selaku dosen pembimbing pendamping yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasihat, dan motivasi dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi.
4. Ibu apt. Maria Ulfah, M.Sc. selaku penguji 1 yang telah memberikan arahan, masukan, dan saran untuk penulisan menyempurnakan skripsi ini.

5. Bapak Drs. apt. Ibrahim Arifin, M.Sc. selaku penguji 2 yang telah memberikan arahan, masukan, dan saran untuk penulis menyempurnakan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang yang telah bersedia mengajarkan pengetahuan ilmu dasar dalam melakukan penelitian skripsi ini.
7. Seluruh Staf Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang yang telah mengizinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian dilaboratorium.
8. Seluruh Staf Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah mengizinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian dilaboratorium.
9. Teman kelompok penelitianku Iqbal Muhammad Nur dan Ghazia Najihan Ni'amudin yang telah berjuang bersama dalam melakukan penelitian ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu sehingga skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang radikal bebas dan antioksidan.

Semarang, 10 Juni 2020

Muhamad Joko Susilo

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....i
INTISARI.....ii
ABSTRACT.....iii
PENGESAHAN SKRIPSI.....iv
SURAT PERNYATAAN.....v
PERSEMBAHAN.....vi
KATA PENGANTAR.....vii
DAFTAR ISI.....ix
DAFTAR TABEL.....xi
DAFTAR GAMBAR.....xii
DAFTAR LAMPIRAN.....xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....1
A. Latar Belakang.....1
B. Rumusan Masalah.....2
C. Tujuan Penelitian.....3
D. Manfaat Penelitian.....3
E. Tinjauan Pustaka.....3
1. Daun Katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr).....3
2. Flavonoid.....7
3. Kuersetin.....7
4. Antioksidan dan Radikal bebas.....8
5. Ekstraksi.....10
6. Fraksinasi.....11
7. Metode ABTS.....11
8. Spektrofotometri UV-Vis.....13
9. Metode Kolorimetri.....14
F. Landasan Teori.....16
G. Hipotesis.....17
BAB II. METODE PENELITIAN.....18
A. Variabel Penelitian.....18
1. Variabel penelitian.....18
B. Alat dan Bahan Penelitaian.....18

1. Bahan penelitian 18
2. Alat penelitian 19
C. Jalannya Penelitian 19
D. Analisis Data 31
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 32
A. Determinasi Tanaman 32
B. Serbuk Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Katuk 33
C. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Katuk 34
D. Identifikasi Senyawa Flavonoid 35
E. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Katuk 36
F. Uji Penetapan Kadar Flavonoid Total FEAEEDK 42
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN 49
A. Kesimpulan 49
B. Saran 49
DAFTAR PUSTAKA 50
LAMPIRAN 56

DAFTAR TABEL

Tabel I. Aktivitas antioksidan berdasarkan IC_{50} 9
Tabel II. Perbandingan IC_{50} FEAEEDK dengan trolox 41
Tabel III. Hasil penentuan kurva baku kuersetin 45
Tabel IV. Hasil penetapan kadar flavonoid total 47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman katuk 4
Gambar 2. Daun, bunga dan biji katuk 5
Gambar 3. Struktur umum flavonoid 7
Gambar 4. Struktur ABTS 12
Gambar 5. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin dengan $AlCl_3$ 15
Gambar 6. Skema pembuatan FEAEEDK 23
Gambar 7. Skema jalannya penelitian 30
Gambar 8. Reaksi flavonoid dengan HCl pekat dan serbuk Mg 35
Gambar 9. Hasil pengukuran panjang gelombang ABTS 36
gambar 10. Hasil penentuan *operating time* ABTS 37
Gambar 11. Pembentukan oksidasi ABTS 38
Gambar 12. Kurva persamaan regresi linier antioksidan trolox 39
Gambar 13. Kurva persamaan regresi linier antioksidan daun katuk 40
Gambar 14. Hasil panjang gelombang maksimum kuersetin 43
gambar 15. Hasil penentuan operating time kuersetin dengan $AlCl_3$ 44
Gambar 16. Kurva baku kuersetin 46
Gambar 17. Reaksi senyawa flavonoid dengan $AlCl_3$ 47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi daun katuk 57

Lampiran 2. Perhitungan simplisia, ekstrak dan fraksi etil asetat 60

Lampiran 3. Perhitungan ABTS dan $K_2S_2O_8$ 62

Lampiran 4. Pembuatan larutan induk trolox dan kuersetin 64

Lampiran 5. Pembuatan larutan stok FEAEEDK 69

Lampiran 6. Penentuan panjang gelombang maksimum ABTS 72

Lampiran 7. Penentuan *operating time* ABTS 73

Lampiran 8. Data pengukuran aktivitas antioksidan 74

Lampiran 9. Hasil analisi regresi linier FEAEEDK 76

Lampiran 10. Penentuan panjang gelombang maksimum flavonoid 77

Lampiran 11. Penentuan *operating time* kuersetin dengan $AlCl_3$ 78

Lampiran 12. Penentuan kurva baku kuersetin 79

Lampiran 13. Perhitungan kadar flavonoid total FEAEEDK 82

Lampiran 14. Dokumentasi penelitian 85

Lampiran 15. Dokumentasi uji aktivitas antioksidan 88

Lampiran 16. Dokumentasi penetapan kadar flavonoid total 89

Lampiran 17. Surat keterangan laboratorium biologi 90

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya berbagai penyakit degeneratif, seperti kardiovaskuler, tekanan darah tinggi, stroke, sirosis hati, katarak, diabetes melitus dan kanker. Radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya, sehingga bersifat reaktif untuk bereaksi dengan molekul lain. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti merusak membran lipid sel, DNA dan protein yang menyebabkan stres oksidatif (Valko dkk., 2007).

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam melindungi kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh (Raharjo, 2005). Secara umum antioksidan dibagi menjadi dua antioksidan enzimatis yang berasal dari dalam tubuh (endogen) yaitu enzim superoksida dismutasi (SOD), katalase, glutation peroksidase (GSH-px) dan antioksidan non enzimatis yang berasal dari luar tubuh (eksogen) yaitu vitamin C, vitamin E, betakaroten dan senyawa flavonoid yang diperoleh dari tumbuhan (Chevion dkk., 2003).

Pengujian antioksidan daun katuk dilakukan menggunakan metode ABTS (2,2 Azinobis *(3-ethylbenothiazoline) 6-Sulfonic Acid*). Prinsip uji ABTS adalah penghilangan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang bereaksi langsung dengan kation radikal ABTS dengan penambahan natrium persulfat. Warna biru-hijau dari ABTS akan berubah menjadi bentuk non radikal

menjadi tidak berwarna bila tereduksi oleh antioksidan (Martysiak dkk., 2011). Penelitian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS lebih baik dari pada menggunakan metode DPPH karena metode ABTS memiliki sensitivitas yang tinggi (Fitriana dkk., 2015). Menurut penelitian yang dilakukan Nurdianti dan Tuslinah (2017) hasil penelitian ekstrak etanol 96% daun katuk dengan metode DPPH mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 32,04 ppm yang artinya aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun katuk sangat kuat sedangkan menurut penelitian Imrawati dkk (2017) hasil penelitian yang telah dilakukan pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun kersen menggunakan metode ABTS memiliki nilai IC_{50} sebesar 1,20 ppm maka termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diketahui bahwa penelitian aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk dengan metode ABTS belum pernah dilakukan sebelumnya dan penelitian ini merupakan pengembangan pengujian aktivitas antioksidan yang sebelumnya sudah diuji aktivitas antioksidannya berupa ekstrak dengan metode DPPH. Dilakukan fraksinasi bertujuan untuk mendapatkan fraksi etil asetat yang diharapkan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan untuk mengetahui kadar flavonoid total dari fraksi etil asetat daun katuk secara kolorimetri.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah penelitian, sebagai berikut:

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) memiliki nilai aktivitas antioksidan dengan metode ABTS yang dinyatakan dengan IC_{50}?
2. Berapakah kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat (*Saurapus androgynus* (L) Merr)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS yang dinyatakan dengan $IC_{50.}$
2. Mengetahui kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr).

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) dan kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) sehingga kedepannya dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai manfaat daun katuk.

E. Tinjauan Pustaka

1. Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr)

a. Klasifikasi Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr).

Kedudukan daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) dalam sistematika tanaman (taksonomi) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

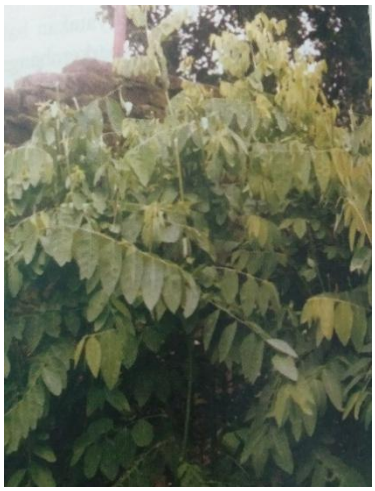
Class : Dicotiledonae

Ordo : Euphorbiales

Famili : Euphorbiceae

Genus : Sauropus

Species : *Saurapus androgynus* (L) Merr (Rukmana dan Indra, 2003)

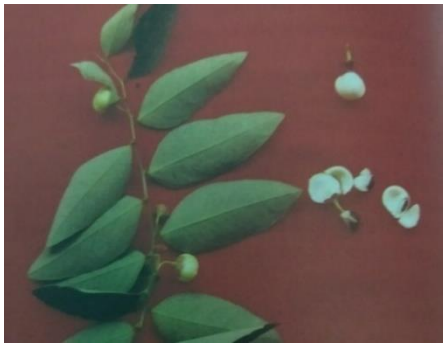


Gambar 1. Tanaman Katuk (Rukmana dan Indra, 2003)

b. Morfologi Tanaman Katuk

Katuk adalah tumbuhan yang tumbuh menahun (*parennial*), yang berbentuk semak perdu dengan ketinggian antara 2 meter-5 meter, dan tumbuh berumpun. Susunan morfologi tanaman katuk terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji (Rukmana dan Indra, 2003). Batang tumbuh tegak dan berkayu, Jika ujung batangnya dipangkas akan tumbuh

tunas yang baru yang akan membentuk percabangan. Daun berbentuk kecil hampir serupa dengan daun kelor dan berwarna hijau. Bunga tanaman katuk berukuran kecil dan berwarna merah gelap sampai kekuning-kuning serta terdapat bintik-bintik merah. Bunga katuk tersebut akan menghasilkan buah berwarna putih yang didalamnya terdapat biji yang berwarna hitam (Santoso, 2002). Gambar daun, bunga dan biji katuk dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Daun, Bunga dan Biji Katuk (Rukmana dan Indra, 2003)

c. Kandungan Senyawa Tanaman Katuk.

Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari. Hasil penelitian sebelumnya, dalam Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa tanaman katuk banyak mengandung beberapa senyawa kimia antara lain alkaloid papaverin, protein, lemak, vitamin, mineral, saponin, flavonoid, dan tanin dari senyawa tersebut dapat diketahui berkhasiat sebagai pengobatan (Rukmana dan Indra, 2003).

Daun katuk memiliki senyawa-senyawa lain seperti asam fenolat yang diidentifikasikan sebagai asam p-hidroksi benzoat, asam ferulat, asam fanilat, dan asam kafeat. Hasil penelitian yang telah dilakukan

menunjukkan bahwa asam p-hidroksi benzoat dalam daun katuk mempunyai persentase yang paling tinggi dari keempat jenis asam fenolat yang telah diidentifikasi (Wijono dan Harsodjo, 2004).

d. Kegunaan Tanaman Katuk.

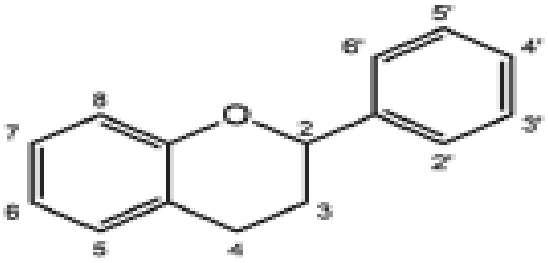
Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) umumnya merupakan salah satu jenis sayuran yang mudah didapatkan. Daun katuk merupakan jenis sayuran hijau yang banyak manfaatnya bagi kesehatan tubuh. Di dalam daun katuk terdapat cukup banyak kandungan kalori, protein, kalsium, zat besi, fosfor dan vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh. Manfaat daun katuk yang terkenal di kalangan masyarakat umum yaitu memperlancar pengeluaran ASI. Infus akar daun katuk dapat digunakan sebagai diuretik dan sari daun katuk dapat digunakan sebagai pewarna makanan (Rukmana dan Indra, 2003).

Daun katuk tidak hanya digunakan untuk memperlancar ASI saja, tetapi juga banyak juga di manfaatkan sebagai pengobatan penyakit, antara lain: menyembuhkan bisul, demam, dan darah kotor (Margono, 2013). Selain itu daun katuk mengandung klorofil. Klorofil dapat digunakan untuk membersihkan jaringan tubuh dan tempat pembuangan sisa limbah metabolisme dalam tubuh, dan dapat digunakan sebagai pengatasan parasit, bakteri, dan virus yang ada dalam tubuh. Turunan klorofil itu sendiri seperti feofitin yang berfungsi sebagai antioksidan (Santoso, 2014).

2. Flavonoid

Flavonoid dibagi menjadi beberapa kelompok besar antara lain flavonol, flavon, flavanon dan isoflavon, sedangkan senyawa non-flavonoid terdiri dari asam fenolik, stilben, dan hidroksisinamat. Senyawa fenolik seringkali ditemukan terkonjugasi dengan gula dan asam organik (Cartea dkk., 2011).

Flavonoid adalah komponen yang mempunyai berat molekul rendah, dan pada dasarnya merupakan *phenylbenzopyrones (phenylchromones)* dengan berbagai variasi pada struktur dasarnya, yaitu tiga cincin utama yang saling berdekatan. Struktur dasar ini terdiri dari dua cincin benzen (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin "C" dan struktur dasar flavonoid adalah rangkaian cincin karbon C_6-C_3-C_6 (Rahmat, 2009). Berdasarkan pada posisi ikatan dari cincin aromatik benzen pada rantai penghubung tersebut, flavonoid dapat dibagi kelompok menjadi 3 kelas utama, flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Struktur umum flavonoid tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur umum flavonoid (Grotewold, 2006)

3. Kuersetin

Baku standar yang digunakan untuk penetapan kadar flavonoid dalam penelitian ini adalah kuersetin. Kuersetin merupakan suatu senyawa flavonoid

dalam sayuran atau buah-buahan yang berpotensi sebagai antioksidan. Potensi tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya gugus hidroksinya yang mampu menangkap langsung radikal bebas. Kuersetin memiliki sifat antiradikal sangat kuat terhadap radikal hidroksil, peroksil dan anion superoksida (Winarsi, 2007).

4. Antioksidan dan Radikal bebas

a. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat atau memperlambat dan mencegah oksidasi yang dapat menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas. Mekanisme dari antioksidan dibagi menjadi 3 golongan, yaitu: antioksidan primer, sekunder dan tersier.

1. Antioksidan primer adalah antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas, karena antioksidan ini mampu mengubah radikal bebas menjadi bentuk molekul yang lebih stabil.
2. Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas sehingga tidak terjadi reaksi berantai dan tidak terjadi kerusakan rantai oksidasi.
3. Antioksidan tersier adalah antioksidan yang berfungsi memperbaiki kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan terdiri dari dua jenis, yaitu antioksidan enzimatik yang terdiri dari superoksida dismutase, katalase dan *glutation peroksidase* sedangkan antioksidan non-enzimatik terdiri dari alfa tokoferol, asam askorbat, *glutation* dan ubiquinon. Antioksidan berperan untuk

menghentikan reaksi berantai senyawa radikal melalui mekanisme penangkapan radikal bebas yaitu dengan memberikan satu elektron untuk berpasangan dengan elektron bebas dari senyawa radikal menjadi non radikal (Rohmatussolihat, 2009). Menurut Molyneux, (2004) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan diukur dari nilai IC_{50} yang dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50} (Molyneux, 2004)

Nilai IC_{50}	**Sifat Antioksidan**
<50 ppm	Sangat kuat
50 ppm-100 ppm	Kuat
100 ppm-150 ppm	Sedang
150 ppm-200 ppm	Lemah

b. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Elektron tidak berpasangan dapat menyebabkan radikal bebas secara kimia menjadi aktif (Winarsi, 2007). Sumber radikal bebas timbul dari proses kimia kompleks dalam tubuh seperti proses pembakaran sel pada waktu bernapas, metabolisme tubuh, dan olahraga yang berlebihan. Selain dihasilkan dari proses metabolisme tubuh, radikal bebas juga dapat terbentuk dari asap rokok, obat-obatan, dan radiasi sinar ultraviolet (Suryohusodo, 2000). Radikal bebas dalam jumlah yang berlebih dapat mengakibatkan stres

oksidatif, akan tetapi apabila dalam tubuh memerlukan asupan yang mengandung suatu senyawa antioksidan yang cukup dapat membantu mengurangi peradangan dan membunuh bakteri di dalam tubuh. Stres oksidatif menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga akan terjadi kerusakan jaringan yang terjadi akibat gangguan oksidatif (Murray dkk., 2000).

5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu bahan dari campurannya menggunakan pelarut berdasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan lain-lain. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Proses ekstraksi ini didasarkan atas perpindahan massa komponen-komponen zat padat dari simplisia ke dalam pelarut, setelah pelarut menembus permukaan dinding sel, kemudian berdifusi sehingga terjadi perbedaan tekanan diluar dan didalam sel (Depkes RI, 2000).

Salah satu metode ekstraksi yaitu maserasi yang merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur kamar. Maserasi didasarkan pada perendaman sampel dengan pelarutnya pada suhu ruang. Sampel akan mengalami pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit

sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut pada pelarut (Voigt, 1995). Kelebihan maserasi adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna (Depkes RI, 2000).

6. Fraksinasi

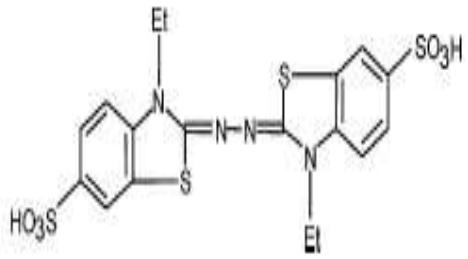
Fraksinasi adalah suatu cara memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan tingkat polaritasnya. Pelarut yang umunya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-Heksan, etil asetat, dan etanol (Harbone, 1987).

Salah satu teknik fraksinasi adalah partisi cair-cair yang bisa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan yang tidak dapat bercampur maka akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan senyawa yang bersifat polar akan tertarik pada pelarut polar seperti (etanol) sedangkan senyawa yang bersifat non polar akan tertarik pada pelarut bersifat non polar dari kedua campuran tersebut biasanya dicampurkan dalam corong pisah (Tobo dkk., 2001).

7. Metode ABTS 2,2' –aziobis *(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*

Metode ABTS adalah penghasil sumber radikal bebas. Metode ini mengukur kemampuan antioksidan untuk merendam ABTS positif ditandai dengan warna biru pekat yang dihasilkan dalam campuran fase air pada tabung

reaksi. Kapasitas antioksidan di uji dengan mereaksikan senyawa uji dengan larutan ABTS yang dihasilkan dari penurunan warna larutan. ABTS yang positif dihasilkan dengan mereaksikan garam ABTS dengan agen pengoksidasi kuat seperti potasium permanganat atau potasium persulfat. Penurunan warna biru-hijau akan menjadi tidak berwarna apabila tereduksi oleh radikal bebas dan intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang yang memiliki serapan yang paling tinggi (Teow, 2005). Gambar struktur kimia ABTS dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia ABTS 2,2' –aziobis ***(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*** (Prior dkk., 2005)

Metode ini berdasarkan dari pembentukan kation radikal ABTS dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 734 nm pada waktu yang sudah ditentukan dengan alat spektrofotometer (Antolovich dkk., 2001). Senyawa yang biasanya digunakan untuk pengujian ABTS adalah trolox (analog vitamin E larut air). Prinsip pengujian metode ABTS dengan mengukur daya antioksidan terhadap radikal bebas ABTS. Sebagai pembanding yang digunakan adalah trolox dan hasil pengujian dapat dinyatakan sebagai trolox ekuivalen (Huang dkk., 2005). Kekurangan dari metode ABTS ini adalah

membutuhkan penyimpanan yang lebih lama sekitar 12-16 jam dibandingkan dengan metode DPPH (Prior dkk., 2005). Sedangkan kelebihan metode ABTS dibandingkan dengan metode DPPH yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksinya lebih cepat. Selain itu, ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga bisa mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik (Karadag, 2009).

8. Spektrofotometri UV – Vis

Spektrofotometri merupakan metode pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom suatu zat kimia. Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan tampak tergantung struktur elektronik dari molekul. Radiasi ultraviolet dan sinar tampak sering dikenal sebagai *spektrokopi elektronik* (Sastrohamidjojo, 2001).

Teknik yang biasa digunakan dalam metode analisis spektrofotometri antara lain spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak (visibel), Panjang gelombang serapan ultraviolet adalah 200-400 nm, sedangkan pada panjang gelombang serapan cahaya tampak (Visibel) adalah 400-800 nm. Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan konsentrasi dari sampel dan hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi yang linier apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 (Suhartati, 2017).

Prinsip kerja spektrofotometri ultra-violet dan sinar tampak berdasarkan pada hukum *Lambert-Beer*. Hukum tersebut menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya tampak, ultraviolet dan cahaya-cahaya lain yang diserap atau

ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan (Skoog, 2007).

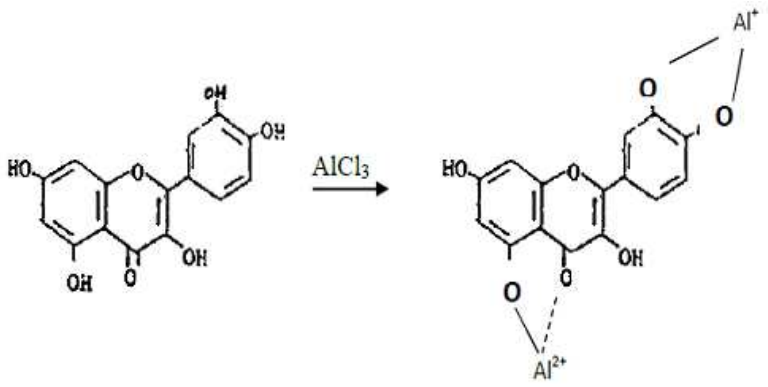
Mekanisme kerja dari spektrofotometri adalah bila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagaian dari sinar akan dipantulkan, sebagian diserap dalam medium dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Metode ini dapat mengukur besarnya aktivitas antioksidan dengan besarnya konsentrasi *inhibitor concentrasion* (IC_{50}). IC_{50} merupakan konsentrasi yang menghasilkan penurunan 50% pada sampel dan control, nilai IC_{50} diperoleh dengan membuat persamaan garis yang menghubungkan % *inhibitor* terhadap konsentrasi sampel dan kontrol (Hasanah dkk, 2017). Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil IC_{50} semakin kuat daya antioksidan secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151- 200 ppm (Molyneux, 2004).

9. Metode Kolorimetri

Metode kolorimetri digunakan untuk menentukan kadar flavonoid dalam tumbuhan yang dapat dibagi dua jenis. Metode pertama merupakan metode kolorimetri menggunakan aluminium klorida berdasarkan pada pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keton $C\text{-}_4$ dan gugus hidroksil $C\text{-}_3$ atau $C\text{-}_5$ kelompok flavon dan flavonol yang menghasilkan warna

kuning, sedangkan kompleks antara aluminium klorida dan gugus ortho dihidroksi akan mudah terurai dengan penambahan asam. Metode kedua merupakan metode kolorimetri dengan DNP (2,4-*dinitrophenylhydrazine*). Prinsip dari metode ini yaitu reagen 2,4-*dinitrophenylhydrazine* yang bereaksi dengan gugus karbonil, keton, dan aldehid untuk 2,4-*dinitrophenylhydrazone* sehingga menghasilkan warna merah. Sedangkan pada penelitian ini yang digunakan untuk menetapkan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri yang direaksikan dengan pereaksi Aluminium klorida ($AlCl_3$), karena metode kolorimetri menggunakan aluminium korida ($AlCl_3$) dapat dilakukan dengan mudah, sederhana, dan cepat (Chang dkk., 2002). Senyawa yang digunakan sebagai baku standar pada penetapan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri adalah kuersetin, karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavon yang memiliki gugus keto pada atom C_{-4} dan gugus hidroksil pada atom C_{-3} dan C_{-5} yang berdekatan (Aminah dkk., 2017). Mekanisme pembentukan kompleks senyawa kuersetin dan alumunium klorida dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin dengan aluminium klorida (Markham, 1988)

F. Landasan Teori

Katuk mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid papaverin, protein, lemak, vitamin, mineral saponin, flavonoid dan tanin (Rukmana dan Indra, 2003). Menurut penelitian Zuhra dkk (2008) ekstrak daun katuk mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Antioksidan sendiri adalah senyawa yang dapat menghambat atau memperlambat dan mencegah oksidasi yang dapat menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Menurut penelitian Fitriana dkk (2015) menunjukkan bahwa metode ABTS lebih baik dibandingkan metode DPPH, karena metode ABTS memiliki sensitivitas lebih tinggi dari metode DPPH. Metode ABTS dan DPPH memiliki mekanisme pembentukan radikal bebas yang berbeda. Pada metode DPPH antioksidan suatu senyawa yang dapat dilihat berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mendonorkan radikal hidrogen. Sedangkan pada metode ABTS kemampuan senyawa dapat dilihat berdasarkan senyawa antioksidan untuk menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton.

Berdasarkan penelitian Hanifa dkk., (2015) menggunakan fraksi daun paitan, hasil perbandingan fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi sebesar 3,992 ppm. Menurut penelitian Arista (2013) ekstrak etanol 96% daun katuk dari uji aktivitas antioksidannya mendapatkan hasil nilai EC_{50} sebesar 1024,27 ppm, nilai ini menunjukkan

konsentrasi ekstrak daun katuk yang diperlukan untuk menghilangkan 50% aktivitas DPPH sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Nurdianti dan Tuslinah, (2017) memperoleh ekstrak daun katuk dengan metode DPPH mendaptkan hasil IC_{50} sebesar 32,04 ppm hal ini dapat dikatakan bahwa nilai aktivitas antioksidan yang dapat menghambat 50% radikal bebas.

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas dapat diambil hipotesis yaitu :

a. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) memiliki aktivitas antioksidan.
b. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) memiliki kandungan flavonoid dengan kadar tertentu.

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Variabel Penelitian

1. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah seri konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr).

b. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas penghambatan ABTS berupa % IC_{50} (aktivitas antioksidan) dan kadar flavonoid total.

c. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah umur tanaman, tempat tumbuh tanaman dan waktu pemanenan, cahaya, dan suhu *rotary evaporator* (RE).

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk bagian pucuk berwarna hijau muda *(Saurapus androgynus* (L) Merr) dari Kelurahan Ngelowetan, Kecamatan Mijen, Kota Demak, Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dengan metode maserasi adalah etanol 96% teknis (Merck). Bahan yang digunakan untuk fraksinasi adalah *n*-Heksan, etil asetat, dan air. Bahan yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid total adalah kuersetin (sigma), pereaksi $AlCl_3$ 10% (Merck), kalium asetat dan etanol p.a (Merck) dan bahan yang digunakan untuk identifikasi flavonoid adalah serbuk magnesium (Mg), Asam klorida (HCl) pekat. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah ABTS (*2,2- Azinobis*

(3-Ethylbenzothaizoline)-6- Sulfonic Acid) p.a (Merck), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), etanol p.a. (Merck) dan trolox (Sigma Aldrich).

2. Alat Penelitian

Seperangkat alat ekstraksi yang terdiri dari alat gelas (*Iwaki* dan *Pyrex*), seperangkat alat maserasi, penyerbuk elektrik, timbangan elektrik (Ohaus), *moisture balance* (Ohaus), vacum, corong buchner, lemari pengering, *rotary evaporator* (Heidolph) dan desikator. Seperangkat alat fraksinasi yang terdiri dari alat gelas (*Iwaki* dan *Pyrex*) dan klaim statif. Seperangkat alat penetapan kadar flavonoid serta uji aktivitas antioksidan adalah seperangkat alat gelas (*Iwaki* dan *Pyrex*), Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadsu) dan mikropipet.

C. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Tanaman Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) yang digunakan pada penelitian ini menggunakan bagian daun. Pengambilan daun katuk dilakukan pada sore hari dengan cara memetik tangkai daun bagian pucuk yang berwarna hijau muda dan segar.

2. Determinasi Tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman katuk kemudian menetapkan kebenarannya sesuai dengan ciri-ciri morfologi tanaman secara makroskopis dengan acuan buku yang dibuktikan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Semarang.

3. Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun katuk bagian pucuk berwarna hijau muda segar dipetik dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan zat-zat pengotor yang menempel, kemudian ditiriskan dan dilakukan sortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan bagian daun-daun yang masih layak untuk dipakai dan juga untuk memisahkan bagian tanaman yang tidak sesuai. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan menggunakan lemari pengering pada suhu 50^0C sampai simplisia kering selama kurang lebih 3 jam dengan ciri-ciri daun mudah hancur jika diremas, proses pengeringan dilakukan selama 3 hari berturut-turut. Simplisia yang sudah kering kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian dari simplisia yang sudah tidak layak untuk dipakai atau rusak akibat pengeringan. Simplisia kering tersebut kemudian ditimbang dan diserbuk menggunakan alat penyerbuk elektrik dengan ayakan 40 mesh. Serbuk simplisia tersebut diukur kadar airnya menggunakan alat *moisture balance* (Nisa dkk., 2013).

4. Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat

Serbuk simplisia daun katuk sebanyak 1.180 gram dimasukkan dalam wadah kaca yang terlapisi kertas coklat, pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 96% teknis sebagai cairan penyari dengan perbandingan 1:10, sehingga pelarut yang digunakan seluruhnya 11.800 L. Proses perendaman dilakukan selama 5 hari dengan 2 tahap. Tahap pertama dilakukan maserasi selama 3 hari dan tahap kedua dilakukan remaserasi selama 2 hari. Proses maserasi menggunakan 75% dari total volume 11.800 L yang digunakan

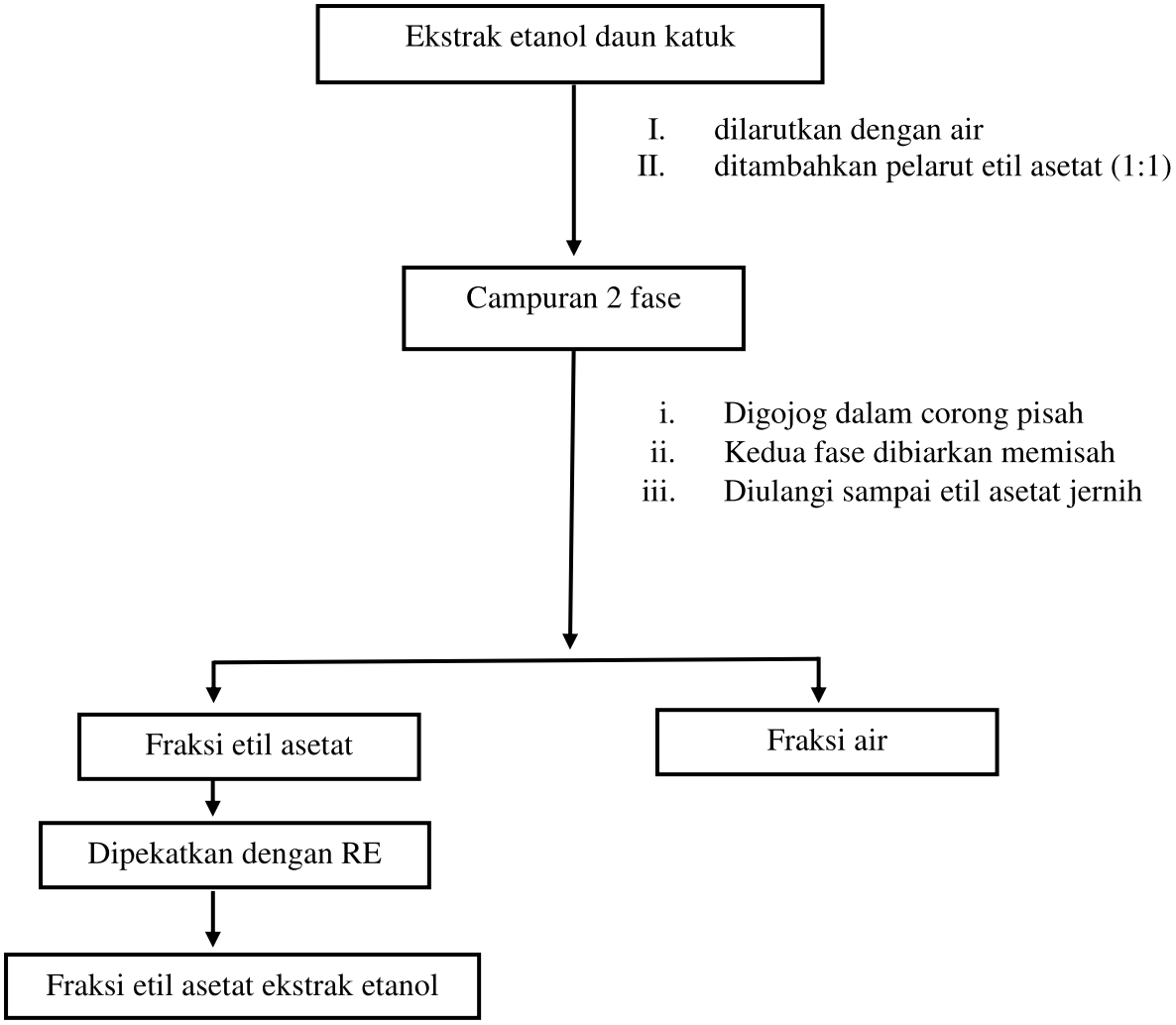
sebesar 8.850 L, ditutup rapat dan disimpan pada tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung, kemudian dilakukan pengadukan setiap 2 kali sehari bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia sehingga tetap terjaga adanya derajat konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Setelah 3 hari, campuran etanol 96% dan serbuk simplisia disaring sehingga diperoleh maserat 1. Ampas dari hasil penyaringan diremaserasi dengan etanol 96% sebanyak 2.950 L selama 2 hari dan diletakkan pada tempat yang terlindung cahaya, kemudian disaring kembali dan diperoleh maserat 2. Hasil maserat 1 dan maserat 2 dicampur, kemudian dikentalkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 50^0C dengan kecepatan 60 rpm sampai diperoleh ekstrak etanol kental (Susanty dkk., 2019)

Rendemen ekstrak etanol dari daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) di hitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Rendemen = \frac{Berat\ ekstrak\ kental\ yang\ diperoleh}{Berat\ serbuk} \times 100\%$$

Ekstrak etanol daun katuk (EEDK) yang didapat kemudian ditimbang dan dimasukkan dalam wadah kaca yang dilapisi kertas coklat kemudian disimpan dalam desikator (Depkes RI, 2000). Ekstrak daun katuk yang didapat berbentuk kental, berwarna hijau pekat dan memiliki bau khas seperti daun katuk, selanjutnya dilakukan proses fraksinasi ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Proses fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 40 gram ekstrak etanol daun katuk dan difraksinasi menggunakan 2 corong pisah,

masing-masing corong pisah sebesar 20 gram EEDK dengan perbandingan 1:1 kemudian masing-masing ekstrak kental dilarutkan 200 mL air sampai terlarut sempurna dan ditambahkan 200 mL *n*-heksan dan digojog sampai terjadi pemisahan 2 fase. Kemudian fase air dan fase *n*-heksan dipisahkan, dilakukan dengan cara yang sama sampai fase *n*-heksan jernih dan tersari sempurna. Kemudian fase air dari hasil pemisahan difraksi kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 200 mL dimasukkan dalam corong pisah kemudian digojog sampai terjadi pemisahan 2 fase, fase etil asetat berada diatas dan fase air berada dibawah. Hasil fraksi etil asetat yang didapatkan kemudian dikentalkan dengan alat *rotary evaporator* dan disimpan dalam wadah kaca yang dilapisi kertas coklat serta ditutup rapat dengan bagian atas tutup dilapisi alumunium foil agar terhindar dari cahaya. Disimpan dalam desikator agar fraksinat tetap dalam kondisi kering terhindar dari kelembaban dan dihitung bobot randemen ekstrak kental kemudian dicatat sebagai bobot fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (FEAEEDK) (Hikmah, 2012). Skema fraksinasi etil asetat ekstrak etanol daun katuk dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk

5. Identifikasi Flavonoid

Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (FEAEEDK) ditimbang 100 mg kemudian dilarutkan dengan pelarut yang sesuai lalu ditambahkan air panas 5 mL dan disaring menggunakan kertas saring. Larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan sedikit Magnesium (Mg) dan Asam klorida (HCl) pekat (37%) sebanyak 5 tetes, digojog dan diamati perubahan warna yang terjadi. Reaksi positif akan menghasilkan warna merah bata (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

6. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

a) Pembuatan Larutan Blanko ABTS

Ditimbang sebanyak 100,2 mg ABTS, kemudian dilarutkan dalam labu takar 25 mL (7,31mM) menggunakan aquadest dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas dan menimbang sebanyak 165,5 mg serbuk kalium persulfate ($K_2S_2O_8$), kemudian dilarutkan kedalam labu takar 250 mL (2,45mM) menggunakan aquadest dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas. Kedua larutan tersebut kemudian diambil dengan perbandingan 1:1 masing-masing sebanyak 25 mL kemudian dicampurkan dalam botol gelap yang dilapisi menggunakan alumunium foil agar terhindar dari cahaya langsung dan diinkubasi ditempat gelap dengan suhu ruang selama 4-8 jam agar terjadi reaksi sempurna (Lee dkk., 2006).

b) Pembuatan larutan Induk Trolox

Ditimbang sebanyak 100,1 mg trolox dilarutkan dengan etanol p.a, kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas (Setiawan dkk., 2018).

c) Pembuatan Seri Konsentrasi Trolox

Larutan induk trolox 1001 µg/mL dibuat seri konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 µg/mL dipipet menggunakan micropipet kemudian ditambahkan etanol p.a dalam labu takar 5 mL dicukupkan volumenya sampai tanda batas (Setiawan dkk., 2018).

d) Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Sampel

Ditimbang sebanyak 500,2 mg fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (FEAEEDK) dilarutkan dalam etanol p.a 100 mL sampai tanda batas (didapatkan konsentrasi sebesar 5.002 µg/mL), larutan stok diencerkan sebanyak 5x dengan cara mengambil 1 mL dari konsentrasi 5.002 µg/mL kemudian dimasukan dalam 5 mL labu takar dengan etanol p.a dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas (didapatkan konsentrasi sebesar 1000,4 µg/mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL dipipet menggunakan micropipet dari masing-masing seri konsentrasi kemudian ditambahkan etanol p.a dalam labu takar 5 mL sampai tanda batas (Setiawan dkk., 2018).

e) Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum

Dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum diambil sebanyak 3 mL larutan ABTS, kemudian dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansi larutan pada spektrofotometri UV-Vis dengan rentang 600-800 nm (Sami dan Rahimah, 2016).

f) Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara mengambil seri konsentrasi 15 µg/mL sebanyak 1mL, ditambahkan ABTS 1 mL diukur pada menit ke-0 sampai 60 pada panjang gelombang maksimum. Waktu yang diperlukan untuk merendam radikal ABTS dihasilkan pada absorbansi yang paling stabil dan memberikan serapan paling tinggi

merupakan *operating time.* Serapan yang tinggi menunjukkan sampel sudah bereaksi dengan sempurna (Sami dan Rahimah, 2016).

g) Pengukuran Serapan Larutan Blanko ABTS.

Larutan blanko ABTS dipipet menggunakan micropipet sebanyak 1 mL dicukupkan volumenya 5 mL sampai tanda batas, kemudian dimasukan dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Sami dan Rahimah, 2016).

h) Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

1. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Pembanding Trolox

Larutan trolox 1001 µg/mL dipipet masing-masing 25 µl, 50 µl, 75 µl, 100 µl, dan 125 µl menggunakan micropipet. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 µg/mL. Sebanyak 1 mL larutan dari masing-masing konsentrasi dimasukkan dalam kuvet dan ditambah 1 mL larutan ABTS kemudian diamkan ditempat yang terhindar cahaya selama *operating time* diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis (Setiawan dkk., 2018).

2. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Katuk (FEAEEDK)

Larutan stok sampel fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk 1000,4 µg/mL diambil masing- masing sebanyak 50 µl,

100 µl, 150 µl, 200 µl dan 250 µl kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas. Sehingga didapatkan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 µg/mL, sebanyak 1 mL larutan dari masing-masing konsentrasi dimasukkan dalam kuvet dan ditambahkan 1 mL larutan ABTS. Kemudian didiamkan di tempat gelap selama *operating time* dan diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis (Setiawan dkk., 2018).

7. Uji Penetapan Kadar Flavonoid Total

1. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 100,1 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai larut. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 250 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Sehingga didapatkan konsentrasi larutan kuersetin 400,4 µg/mL, kemudian dilakukan pengenceran 10x dengan cara mengambil 1 mL larutan kuersetin 400,4 µg/mL menggunakan micropipet dan dimasukkan dalam labu takar 10 mL kemudian dicukupkan volumenya menggunakan etanol p.a sampai tanda batas dan didapatkan konsentrasi sebesar 40,04 µg/mL (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

2. Pembuatan Larutan Stok Sampel

Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (FEAEEDK) ditimbang sebanyak 500,2 mg menggunakan cawan porselen kemudian dilarutkan dalam labu takar 100 mL dan dicukupkan volumenya menggunakan etanol

p.a sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 5.002 µg/mL (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

3. Pembuatan Larutan Induk $AlCl_3$ 10 %

   Serbuk aluminium klorida ($AlCl_3$) ditimbang sebanyak 500,2 mg, kemudian dilarutkan menggunakan etanol p.a pada labu takar 5 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

4. Pembuatan Larutan Induk Kalium Asetat

   Serbuk kalium asetat (CH_3COOK) ditimbang sebanyak 500,2 mg, kemudian dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a pada labu takar dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

5. Pembuatan Seri Konsentrasi Kuersetin

   Larutan induk kuersetin 40,04 µg/mL dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm, kemudian dipipet masing-masing konsentrasi menggunakan micropipet dan dimasukan kedalam labu takar 5 mL dan dicukupkan volumenya menggunakan etanol p.a sampai tanda batas (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

6. Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum.

   Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum dilakukan dengan cara membuat larutan kuersetin pada konsentrasi 6 ppm. Sebanyak 2 mL diambil menggunakan micropipet dari seri konsentrasi 6 ppm, kemudian ditambahkan $AlCl_3$ 200 µl dan 200 µl kalium asetat (CH_3COOK). Diukur

serapannya pada spektrofotometri UV-Vis dengan rentang 400-500 nm dengan nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 nm. Hasil yang didapat dari penentuan panjang gelombang maksimum mendapatkan panjang gelombang mamksimum sebesar 435,6 nm (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

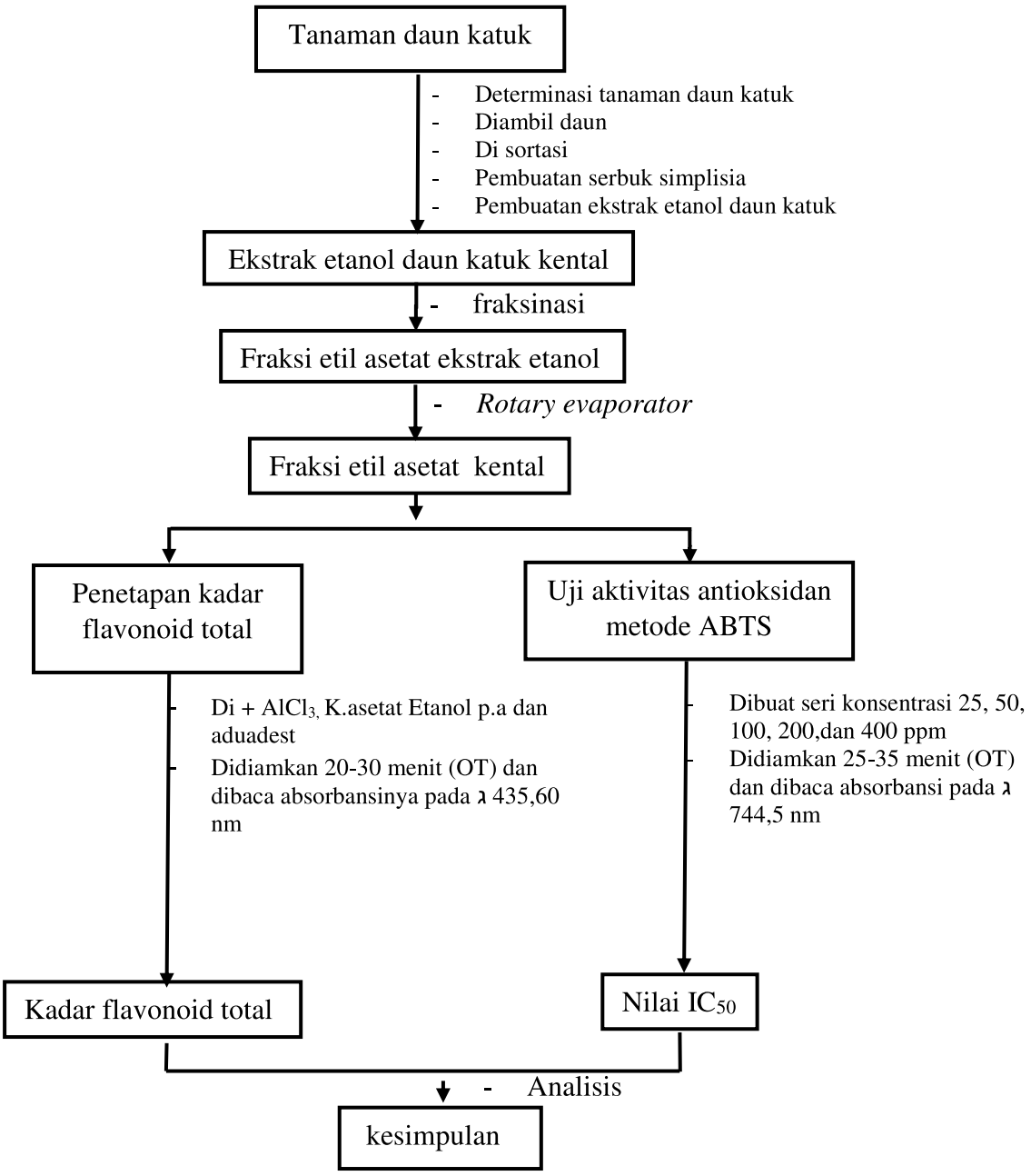
7. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* menggunakan larutan kuersetin, sebanyak 2 mL diambil menggunakan micropipet dari seri konsentrasi 6 ppm kemudian ditambahkan $AlCl_3$ 200 µl dan 200 µl kalium asetat (CH_3COOK). Diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan waktu pengukuran menit ke- 0 sampai 60. *Operating time* ditentukan dengan cara melihat nilai absorbansi yang stabil pada hasil pengukuran (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

8. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Pengukuran kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$, Larutan stok fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (FEAEEDK) dilakukan pengenceran 5x diambil 1 mL dengan micropipet kemudian dilarutkan dalam 10 mL labu takar, hasil pengenceran diambil sebanyak 2 mL dimasukkan dalam kuvet kemudian ditambahkan pereaksi $AlCl_3$ sebanyak 200 µl dan kalium asetat 200 µl. Kemudian ditunggu selama *operating time* pada menit ke-25 dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri visibel pada

pajang gelombang maksimum (Puspitasari dan Wulandari, 2017). Skema jalannya penelitian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema jalannya penelitian

D. Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan berupa nilai absorbansi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk dan presentase aktivitas antioksidan yang dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{absorbansi\ kontrol - absorbansi\ sampel}{absorbansi\ kontrol} \ x100\%$$

Keterangan: Abs kontrol = absorbansi ABTS

Abs sample = absorbansi seri konsentrasi FEAEEDK dan trolox

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan melalui perhitungan nilai IC_{50} yang ditentukan dengan nilai konsentrasi sampel (ekstrak maupun trolox) dan persen aktivitas antioksidan diplotkan masing-masing pada sumbu x sebagai seri konsentrasi dan y sebagai absorbansi pada persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk persamaan y = bx + a, persamaan regresi digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} (Wahdaningsih dkk., 2011).

Data yang diperoleh dari penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan memplotkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva baku kuersetin. Kadar flavonoid total dapat dihitung dengan rumus: (Samin dkk., 2013)

$$Kadar\ flavonoid\ total = \frac{C \ x \ Fp \ x \ Vol\ total\ sampel}{g}$$

Keterangan: C = Kosentrasi flavonoid (nilaiX)

Fp = Faktor pengenceran

V = Volume total sampel (mL)

g = Berat sampel yang digunakan (gram)

HALAMAN INI TIDAK TERSEDIA

BAB III

DAPAT DIAKSES MELALUI

UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Hasil fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) memilik aktivitas antioksidan dengan nilai rata-rata IC_{50} sebesar 38,091 µg/mL yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat.
2. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) memiliki kadar flavonoid total dengan rata-rata sebesar 10,313 mgQE/gram sampel menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

B. Saran

Saran dari penelitian ini adalah

1. Sebaiknya penelitian selanjutnya bisa menggunakan metode ekstraksi yang lain, seperti metode perkolasi karena metode perkolasi pelarut yang digunakan selalu baru sehingga senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan akan tertarik sempurna.
2. Penelitian selanjutnya perlu melakukan penelitian tentang kandungan senyawa lain yang terdapat dalam kandungan daun katuk yang dapat berpotensi sebagai antioksidan, seperti senyawa tanin.

DAFTAR PUSTAKA

Aminah., Tomayahu, N., dan Abidin, Z., 2017, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* ,4 (2), Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2001, Methods for Testing Antioxidant Activity, *Journal Analyst*, 127, 183-198.

Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S.E., Bektasoglu, B., Berker K. I., dan Ozyurt, D., 2007, Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic CompoundsWith The CUPRAC Assay, *Molecules*, 12, 7, 1496-547.

Arista, M., 2013, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Saurapus androgynous* (L) Merr), *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, 2 (2), Universitas Surabaya.

Azizah, N.D., Kumolowati, E., dan Faramayuda, F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode $Alcl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.), *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2), 45-49, ISSN 2354- 6565.

Backer, C.A., Backuizen, V. D. B., 1968, Flora of Java, Vol. I dan Vol. II, Noordhof N.V, Gronigen, The Netherland.

Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P., Velasco, p., 2011, Phenolic Compounds in Brassica Vegetables, *journal Molecules* ,16, 251-280.

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, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.

Chevion, S., Molan, D.S., Heled, Y., 2003, Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise, *Journal Proc Nati Acad Sci (PNAS)*, 100 (9), 5119-5123.

Depkes RI., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat,* Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Depkes RI., 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Fitriana, W.D., Ersam, T., dan Fatmawati, S., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera), Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains* 2015 (SNIPS 2015), Bandung, Indonesia.

Gandjar, G.H., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar, hal.120, 164, 166.

Grotewold, E., 2006, *The Science of Flavonoid*, Springer Science and Business Media Inc., USA, 2.

Harbone, J.B, 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Kosasis P, Iwang S, Penerjemah: Sofia N, editor, Bandung: ITB, Terjemahan dari: Phytochemical Methods.

Hasanah, M., Maharani, B., Munarsih, E., 2017, Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta *(Coffea robusta)* Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Sumatera Selatan.

Hanifa, R.A., Lukmayani, Y., dan Syafnir, L., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan serta Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak dan Fraksi Daun paitan (*Tithonia Diversifolia* (Hemsley A. Gray), *Jurnal Prosiding Penelitian*, Fakultas MIPA Universitas Islam Bandung, Bandung.

Hikmah, F.D., 2012, Pengaruh Partisi Bertingkat Cair-Cair Ekstrak Etanol Rimpang Jahe (Zingiber Officinale Rosc.), Terhadap Profil Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antiradikalnya, *Naskah Publikasi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Huang, D., OU, B., dan Pior, L. R., 2005 The Chemistry Behid Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agric Chem*, 53, 1841-1856.

Imrawati., Mus, S., Gani, A.S., Bubua, I.K., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan Metode ABTS, *Journal of Pharmaceutical and Medicinai Sciences*, 2 (2), 59-62, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Makassar.

Jose, S., dan Radhamany, P.M., 2012, Identification and Determination of Antioxidant Constituensts of bioluminescent mushroom, Asian Pac. J. Trop Biomed, 2, 386-391.

Karadag, A., B, Ozcelik., S, Saner., 2009, Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities, *Food Analytical Methods*, Vol 2 (1), 41-60.

Lee, B.W., Lee, J.H., Gal, S.W., Moon, Y.H., and Park, K.H., 2006, Selective ABTS Radical-Scavenging Activity of Prenylated Flavonoid from *Caudrania tricuspidata, J. Biosci, Biotechnol, Biochem*., 70, 2, 427-432.

Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoid*, SpringerVerlag, Berlin, 50-52.

Margono, P.E.F., 2013, Uji Efek Daun Katuk (*Saropus androgynus* (L) Meer) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus Norwegians*) secara Histologi, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, Universitas Surabaya 2 (1).

Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.

Martysiak, D., Zurowska., Weronika, W., 2011, A Comparison of ABTS and DPPH Methods for Assesing the Total Antioxidant Capacity of Human Milk, *Journal of Food Chemistry, Technology and Biotechnology*,11, 83-89.

Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26 (2), 211-219.

Murray, R. K., Mays, P.A., Gamar, D.K, dan Rodwel, V.W., 2000, *Biokimia*, Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Nisa, V.M., Meilawaty, Z, dan Astuti, P., 2013, Efek Pemberian Ekstrak Daun Singkong (Manihot esculenta) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus, Jurnal Ilmiah Mahasiswa, Universitas Jember (UNEJ), 1-7.

Nurdianti, L, dan Tuslinah, L., 2017, Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Saurapus androgynus* (L) Merr) Terhadap DPPH, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, Stikes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, 17, 1.

Oliveira, S.D., Souza, G.A., Eckert, C.R., Silva, T.A., Sobral, E.S., Favero, O.A., Ferreira, M.J.P., Romoff, P., and Baader, W.J., 2014, Evaluation of Antiradical Assays Used Indetermining The Antioxidant Capacity of PureCompounds and Plant Extracts, *Journal Quim Nova*, 37, 3, 497-503.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005, Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Foods and

Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chermistry*, 53, 4290-4302.

Puspitasari, D.A., dan Wulandari L.R., 2017, Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Daun Kersen *(Munitingia calabura L.). Pharmaciana,* 7, (2), 147-158.

Puspitasi, D.A., Susanti, E., dan Khustiana, A., 2019, Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Menggunakan Metode ABTS, *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5, (2).

Raharjo, M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Jakarta: Penebar Swadaya.

Rahmat, H., 2009, Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Rukmana, R., dan Indra M.H., 2003, *Katuk Potensi dan Manfaatnya*, Yogyakarta: Kanisius, 9-29.

Robison, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung.

Rohmatussolihat, 2009, Antioksidan Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia, *Jurnal Bio Trends*, 4 (1), 5-7.

Safitri, I., Nuria, C.M., Puspitasari, D. A., 2018, Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (Pluchea indica L.) Pada Berbagai Metode Ekstraksi, *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3, 1, Univesitas Wahid Hasyim; Semarang.

Samin, A.A., Bialang, N., Salimi, K.Y., Penentuan Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan dari Rambut Jagung (*ZEA MAYS* L.) yang Tumbuh Di Daerah Gorontalo, *Jurnal Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan IPA*, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo.

Sami, F.J., dan Rahimah, S., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*) dengan Metode DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan Metode ABTS (*2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat*), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2, 2, 107-110.

Santoso, U., 2002, Aplikasi Teknologi Ekstrak Daun Katuk Pada Broiler, *Jurnal Public Service*, Bengkulu University; Bengkulu.

Santoso, U., 2014, *Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat*, Bengkulu: Badan Penerbit Fakultas Pertanian.

Satrohamidjojo, H., 2001, *Dasar-dasar Spektroskopi*, Edisi. 2, Yogyakarta: Liberty.

Setiawan, E.C.N., dan Febriyanti. A., 2017, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi (*Eleutherine palmifolia* (L.) Meer.) dengan Metode DPPH, *Jurnal of Current Pharmaceutical Sciences*, 1 (1), Akademi Farmasi Putra Indonesia, Malang.

Setiawan, F., Yunita, O., dan Kurniawan, A., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, *Jurnal Media Pharmaceutica Indonesia*, 2, 2.

Serlahwaty, D., dan Sevian, N.A., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry dan Tomat Dengan Metode ABTS, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*, 50, Samarinda.

Skoog, D.A., Holler., Crouch., 2007, *Principle of Instrumental Analysis*,6th Edition, Thomson Brooks/ Cole, USA, 336-349.

Suhartati, T., 2017, *Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Bandar Lampung: AURA.

Supriningrum, R., Fatimah, N., Wahyuni, N. S., 2018, Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) Berdasarkan Perbedaan cara Pengeringan, *Jurnal Ilmiah Manuntung,* Samarinda, 4 (2), 156-161.

Suryohusodo, P., 2000, *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*, Jakarta: CV. Infomedika.

Susanty., Ridnugrah, A. N., Chaerrudin, A., Yudistirani, A.S., 2019, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebgai Zat Tambahan Pembuatan *Moisturizer*, *Jurnal. Umj.ac.id,* Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta.

Teow, C.C., 2005, Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Sweet potatoes, *Thesis,* Raleigh: Food Science Faculty of North Carolina State University.

Tobo, F.M., Taebe, B., Mahmud, A.I., 2001, *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I*. UNHAS. Makassar, 1,83.

Unthia, R., Arifin, H, dan Efrianti, F., 2017, Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat Pada Mencit Putih Jantan, *Jurnal Farmasi Higea*, 9, 1.

Valko, M., Leibfritz, D., dan Moncol, J., 2007, Review Free Radical Antioxidant in Normal Physiological Function and Human Disease*, The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.

Voigt R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Noeron S, Penerjemah: Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, Hal: 566-567.

Wahdaningsih, Sri., Seyowati., Erna P., Wayuono., dan Subagus., 2011, Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis *(Alsophila glauca J.Sm), Majalah Obat Tradisional*, 16 (3), 156-160.

Winarsi H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 18.

Wijono, S., dan Harsodjo, S., 2004. Isolasi dan Identifikasi Asam Fenolat Pada Daun *Katuk* (*Sauropus androgynus (L) Merr*), *Jurnal FMIPA Makara Kesehatan*, 8 (1), Jakarta.

Zuhra, C.F., Juliati Br., dan Herlice S., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Saurapus androgunus* (L) Meer), *Jurnal Biologi*, 3 (1), 7-10, Sumatera.