

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TOTAL  
FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
(*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

**Skripsi**

**FARIHA AIS ALIYA  
2018031014**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TOTAL  
FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI  
(*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

**Oleh**

**FARIHA AIS ALIYA**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA FARMASI**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

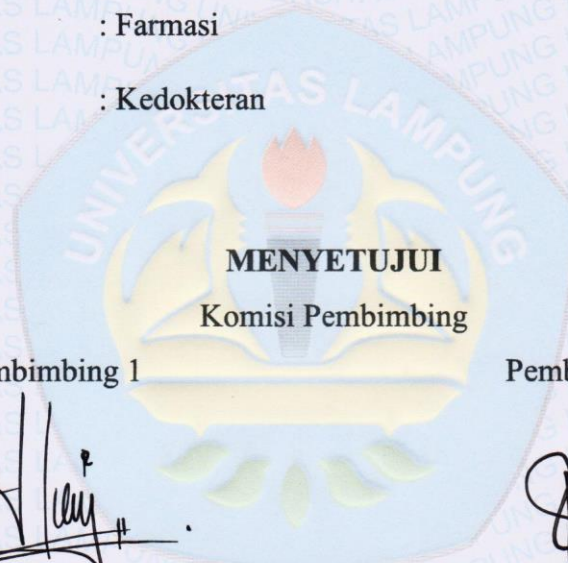
Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

Nama Mahasiswa : **Fariha Ais Aliya**

No. Pokok Mahasiswa : 2018031014

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran



**MENYETUJUI**  
Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2

**apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm**  
NIP. 199405182022032019

**apt. Nurma Suri, M.Biomed.Sc., MKM**  
NIP. 198603102009022002

**MENGETAHUI**

Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**  
NIP. 197601202003122001

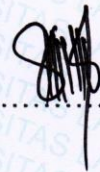
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm**



**Sekretaris : apt. Nurma Suri, M.Biomed.Sc., MKM**



**Penguji**

**Bukan Pembimbing : apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**

**NIP. 197601202003122001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 17 Juli 2024**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 19 Juli 2024  
Pembuat Pernyataan



Fariha Ais Aliya  
NPM. 2018031014

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis, Fariha Ais Aliya dilahirkan di Sukadana pada tanggal 21 Juli 2001, yang lahir dari pasangan Abdullah Sani dan Yusmala Dewi. Penulis memiliki seorang kakak laki-laki dan seorang adik perempuan.

Pendidikan pertama ditempuh di TK PGRI II Sukadana selama 2 tahun, kemudian melanjutkan pada jenjang Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 5 Sukadana Pasar hingga lulus pada tahun 2013. Jenjang pendidikan selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan di SMP IT Baitul Muslim dan lulus pada tahun 2016. Pendidikan pada sekolah menengah atas penulis, ditempuh di MAN 1 Lampung Timur dan lulus pada tahun 2019. Penulis diterima dan mulai menjalani perkuliahan di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2020.

Penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam berbagai kegiatan akademik dan non-akademik. Penulis memenangkan juara 1 Lomba Video Edukasi dalam Rangkaian Acara Pharmalation Tahun 2020. Penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik (2023) dan Praktikum Farmasetika Dasar (2024). Penulis juga diberikan kesempatan bergabung dalam organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai Wakil Ketua Umum tahun 2021-2022 dan Himafarsi Unila sebagai Anggota Departemen Media dan Komunikasi tahun 2021-2023.

Dengan ketekunan serta motivasi tinggi untuk terus belajar dan berusaha, sehingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi ini. Semoga hasil penulisan skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan dan masyarakat.

*Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh cinta dan rasa syukur kepada keluarga tercinta. Kepada Ayah dan Ibu yang telah memberikan doa, cinta, dan dukungan yang tiada henti, serta kepada saudara-saudaraku. Terima kasih atas segala kasih sayang dan dukungan yang telah diberikan.*

**لا يكلف الله نفساً إلا وسعها**

*“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”*

(Q.S Al Baqarah : 286)

## SANWACANA

Alhamdulillah rabbil alamiin... Puji syukur penulis sampaikan kepada Allah SWT atas berkah, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Total Fenolik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis”**. Tak lupa pula penulis ucapkan semoga shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada suri tauladan kita Nabi Muhammad SAW.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, saran, kritik, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M. selaku Kepala Jurusan Farmasi dan Wakil Dekan 1 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
4. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm. selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, bimbingan, masukan, saran dan semangat serta motivasi kepada penulis sejak penulisan proposal penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai.
5. apt. Nurma Suri, M.Biomed.Sc., MKM. selaku Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, bimbingan, masukan, saran dan semangat serta motivasi kepada penulis sejak penulisan proposal penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai.



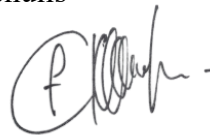
6. apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm. selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini.
7. apt. Citra Yuliyanda, S.Farm., M.Farm. selaku Pembimbing Akademik semester 1-8 yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, evaluasi, dorongan, kritik serta saran membangun kepada penulis selama masa pendidikan di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
8. Seluruh dosen Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan bimbingan, arahan dan semangat dalam menimba ilmu selama proses perkuliahan.
9. Seluruh staf dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyusunan skripsi ini.
10. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian.
11. Seluruh staf Laboratorium Farmasetika Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian.
12. Seluruh staf Laboratorium FMIPA Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian.
13. Ibu dan Ayah tercinta dan tersayang, atas segala perhatian, kasih sayang dan doa yang selalu mengiringi perjalanan hidup penulis. Terima kasih juga atas dorongan semangat, motivasi dan dukungan baik secara moral maupun material.
14. Kakak, adik dan keluarga besar tersayang, atas doa, semangat, nasihat, perhatian dan dukungan yang sangat berarti bagi penulis dalam proses penyusunan skripsi ini.
15. Sahabat penulis di keluarga "The Moon" yaitu Jazaul Fariha Al Hanif, Elisabeth Elva Monika, Jessica Natanael, Sekar Rahmasari R. C, Asyfa Nadya Darazat, dan Fadyla Amanda yang telah menjadi sahabat dan keluarga terbaik selama perkuliahan dan selalu memberikan motivasi, dukungan dan bantuan kepada penulis. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses.

16. Teman-teman angkatan 2020 "T20MBOSIT" yang telah memberikan masukan, saran, dan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi.
17. Kpop grup "EXO" yang lagu-lagunya selalu menemani penulis saat mengerjakan skripsi ini.
18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan dan bantuan selama penyusunan skripsi ini. zul
19. Terakhir, kepada diri penulis sendiri. Terimakasih telah mempercayai dirimu sendiri dengan selalu bekerja keras untuk berjuang sejauh ini, semangat berjuang lagi untuk tahap selanjutnya.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi orang banyak dan dapat memberikan tambahan pengetahuan maupun informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 19 Juli 2024

Penulis



**Fariha Ais Aliya**

## ABSTRACT

### STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMBINATIONS EXTRACTS OF GUAVA LEAF (*Psidium guajava* L.) AND GREEN BETEL LEAF (*Piper betle* L.) USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Created by

Fariha Ais Aliya

**Background:** Guava leaves and green betel leaves have been proven to possess antioxidant activity. The combination of two plant extracts are expected to enhance antioxidant potential compared to single extracts. This study aims to determine the total phenolic content and antioxidant activity of a combination of ethanol extracts of guava leaves (*Psidium guajava* L.) and green betel leaves (*Piper betle* L.).

**Methods:** Ethanol extracts of guava leaves and green betel leaves were combined in ratios of 1:0, 1:2, 1:1, 2:1, and 0:1. Total phenolic content was measured using the *folin-ciocalteu* method, and antioxidant activity was assessed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method.

**Results:** The total phenolic content for combinations of ethanol extracts of guava leaves and green betel leaves in ratios of 1:0, 1:2, 1:1, 2:1, and 0:1 were 43,556 mgGAE/g, 55,196 mgGAE/g, 53,608 mgGAE/g, 64,402 mgGAE/g, and 40,593 mgGAE/g, respectively. The IC<sub>50</sub> values for antioxidant activity for each concentration ratio were 71,180 µg/ml, 56,267 µg/ml, 46,292 µg/ml, 16,889 µg/ml, and 77,783 µg/ml.

**Conclusions:** The combination of ethanol extract of guava leaves and green betel leaves in a 2:1 ratio yielded is the best results in terms of total phenolic content and antioxidant activity, with values of 64,402 mgGAE/g and 16,889 µg/ml, respectively.

**Key words:** Antioxidant, ethanol extract, green betel leaf, guava leaf, total phenolic.

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Oleh

Fariha Ais Aliya

**Latar Belakang:** Daun jambu biji dan daun sirih hijau telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Kombinasi kedua ekstrak tanaman tersebut, diharapkan dapat meningkatkan potensi aktivitas antioksidan dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

**Metode:** Ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dikombinasikan dengan perbandingan 1:0, 1:2, 1:1, 2:1, 0:1. Pengujian kadar total fenolik dilakukan dengan menggunakan metode *folin-ciocalteu* dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

**Hasil:** Hasil pengukuran kadar total fenolik dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan perbandingan konsentrasi 1:0, 1:2, 1:1, 2:1, 0:1 memiliki kadar masing-masing sebesar 43,556 mg GAE/g, 55,196 mg GAE/g, 53,608 mg GAE/g, 64,402 mg GAE/g dan 40,593 mg GAE/g. Sedangkan hasil nilai IC<sub>50</sub> untuk pengukuran aktivitas antioksidan dari masing-masing perbandingan konsentrasi yaitu 71,180 µg/ml, 56,267 µg/ml, 46,292 µg/ml, 16,889 µg/ml dan 77,783 µg/ml.

**Kesimpulan:** Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan perbandingan 2:1 memiliki hasil yang lebih baik dalam hal pengujian kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan dengan memperoleh nilai masing-masing sebesar 64,402 mg GAE/g dan 16,889 µg/ml.

**Kata kunci:** Antioksidan, daun jambu biji, daun sirih hijau, ekstrak etanol, total fenolik.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG</b> .....	<b>vii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti .....	6
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi .....	6
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
1.5 Batasan Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Tanaman Daun Jambu Biji .....	7
2.1.1 Klasifikasi .....	7
2.1.2 Deskripsi .....	7
2.1.3 Morfologi.....	8
2.1.4 Kandungan kimia.....	9
2.2 Tanaman Daun Sirih Hijau .....	10
2.2.1 Klasifikasi .....	10
2.2.2 Deskripsi .....	10
2.2.3 Morfologi.....	12
2.2.4 Kandungan Kimia.....	13
2.3 Antioksidan dan Radikal Bebas.....	14
2.3.1 Radikal Bebas .....	14
2.3.2 Pembentukan Radikal Bebas .....	14
2.3.3 Antioksidan.....	15
2.3.4 Mekanisme Antioksidan .....	16
2.3.5 Klasifikasi Antioksidan.....	16
2.4 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan .....	17
2.5.1 Metode DPPH ( <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> ) .....	18

2.5	Metode Penentuan Total Fenolik Menggunakan Reagen <i>Folin-Ciocalteu</i> .....	20
2.6	Senyawa Metabolit Sekunder.....	21
2.6.1	Senyawa Fenolik.....	22
2.6.2	Terpenoid dan Steroid (Terpen).....	23
2.6.3	Senyawa yang Mengandung Nitrogen.....	23
2.7	Ekstraksi.....	24
2.7.1	Maserasi.....	25
2.8	Spektrofotometri UV-Vis.....	26
2.9	Kerangka Teori.....	28
2.10	Kerangka Konsep.....	29
2.11	Hipotesis.....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>30</b>
3.1	Desain Penelitian.....	30
3.2	Waktu dan Tempat.....	30
3.2.1	Waktu.....	30
3.2.2	Tempat.....	30
3.3	Alat dan Bahan.....	31
3.3.1	Alat.....	31
3.3.2	Bahan.....	31
3.4	Definisi Operasional.....	32
3.4.1	Variabel Bebas.....	32
3.4.2	Variabel Terikat.....	32
3.5	Etika Penelitian.....	33
3.6	Tahapan penelitian.....	33
3.6.1	Determinasi Tanaman.....	33
3.6.2	Persiapan Sampel.....	33
3.6.3	Pembuatan Ekstrak.....	33
3.7	Penapisan Fitokimia.....	34
3.7.1	Uji Flavonoid.....	34
3.7.2	Uji Fenolik.....	35
3.7.3	Uji Tanin.....	35
3.7.4	Uji Alkaloid.....	35
3.7.5	Uji Saponin.....	35
3.7.6	Uji Steroid dan Terpenoid.....	36
3.8	Konsentrasi Kombinasi Ekstrak.....	36
3.9	Penetapan Kadar Total Fenolik.....	36
3.9.1	Pembuatan Larutan Reagen $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 7%.....	36
3.9.2	Pembuatan Larutan Asam Galat.....	37
3.9.3	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	37
3.9.4	Pembuatan Kurva Baku Larutan Asam Galat.....	37
3.9.5	Pembuatan Larutan Uji.....	38
3.9.6	Penentuan Kadar Total Fenolik.....	38
3.9.7	Perhitungan.....	38
3.10	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	39
3.10.1	Pembuatan Larutan DPPH.....	39
3.10.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	39

3.10.3 Pembuatan Larutan Asam askorbat .....	39
3.10.4 Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat .....	40
3.10.5 Pembuatan Larutan Uji .....	40
3.10.6 Penetapan Aktivitas Antioksidan .....	41
3.10.7 Perhitungan .....	41
3.11 Analisis Data .....	42
3.12 Alur Penelitian .....	43
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>44</b>
4.1 Hasil .....	44
4.1.1 Determinasi Tanaman .....	44
4.1.2 Rendemen Ekstrak .....	44
4.1.3 Penapisan Fitokimia .....	45
4.1.4 Penetapan Kadar Total Fenolik .....	46
4.1.5 Uji Aktivitas Antioksidan .....	47
4.1.6 Analisis Data Hubungan Kadar Total Fenolik terhadap Nilai IC <sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan .....	48
4.2 Pembahasan .....	49
4.2.1 Determinasi Tanaman .....	49
4.2.2 Rendemen Ekstrak .....	50
4.2.3 Penapisan Fitokimia .....	50
4.2.4 Penetapan Kadar Total Fenolik .....	51
4.2.5 Uji Aktivitas Antioksidan .....	53
4.2.6 Analisis Data Hubungan Kadar Total Fenolik terhadap Nilai IC <sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan .....	55
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>56</b>
5.1 Simpulan .....	56
5.2 Saran .....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>58</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>70</b>

**DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 2. 1</b> Parameter Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC <sub>50</sub> .....	19
<b>Tabel 2. 2</b> Macam-Macam Pelarut Berdasarkan Kepolarannya .....	24
<b>Tabel 3. 1</b> Definisi Operasional Penelitian .....	32
<b>Tabel 3. 2</b> Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau ....	36
<b>Tabel 4. 1</b> Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Kental .....	44
<b>Tabel 4. 2</b> Hasil Penapisan Fitokimia .....	45
<b>Tabel 4. 3</b> Hasil Penetapan Kadar Total Fenolik Ekstrak Etanol Kental .....	46
<b>Tabel 4. 4</b> Hasil Uji Aktivitas Antioksidan .....	47
<b>Tabel 4. 5</b> Hasil Uji Korelasi Kadar Total Fenolik terhadap Nilai IC <sub>50</sub> .....	48



## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 2. 1</b> Tanaman Daun Jambu Biji.....	9
<b>Gambar 2. 2</b> Struktur kimia senyawa quercetin .....	10
<b>Gambar 2. 3</b> Tanaman Daun Sirih Hijau.....	12
<b>Gambar 2. 4</b> Struktur kimia eugenol .....	13
<b>Gambar 2. 5</b> Tahapan reaksi radikal bebas .....	15
<b>Gambar 2. 6</b> Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan	19
<b>Gambar 2. 7</b> Mekanisme tranformasi reagen <i>folin-ciocalteu</i> dengan asam galat	21
<b>Gambar 2. 8</b> Spektrum Elektromagnetik .....	26
<b>Gambar 2. 9</b> Kerangka Teori.....	28
<b>Gambar 2. 10</b> Kerangka konsep .....	29
<b>Gambar 3. 1</b> Alur Penelitian .....	43

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1.</b> Persetujuan Etik .....	71
<b>Lampiran 2.</b> Hasil Determinasi Tanaman Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L.) .....	72
<b>Lampiran 3.</b> Hasil Determinasi Tanaman Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) .....	74
<b>Lampiran 4.</b> Diagram Penelitian .....	76
<b>Lampiran 5.</b> Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel .....	85
<b>Lampiran 6.</b> Data Hasil Penelitian dan Perhitungan .....	86
<b>Lampiran 7.</b> Hasil Analisis Data Statistika Menggunakan Aplikasi SPSS.....	97
<b>Lampiran 8.</b> Dokumentasi .....	99
<b>Lampiran 9.</b> <i>Certificate of Analysis</i> Asam Askorbat .....	104
<b>Lampiran 10.</b> <i>Certificate of Analysis</i> Asam Galat.....	105
<b>Lampiran 11.</b> <i>Certificate of Analysis</i> Folin-Ciocalteu .....	106
<b>Lampiran 12.</b> <i>Certificate of Analysis</i> Natrium Karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).....	107
<b>Lampiran 13.</b> <i>Certificate of Analysis</i> DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)..	108

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
mg GAE/g	<i>miligram galic acid equivalen per gram</i>
µg/ml	mikrogram per mililiter
mg/g	miligram per gram
mg	miligram
g	gram
ml	mililiter
ppm	<i>part per million</i>
nm	nanometer
cm	<i>centimeter</i>
m	meter
UV-Vis	Ultraviolet-Visible
EMR	<i>Electromagnetic Radiation</i>
IC <sub>50</sub>	<i>inhibitor concentration 50%</i>
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>
HAT	<i>Hydrogen atom transfer</i>
ET	<i>Electron transfer</i>
DPPH	<i>2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl</i>
ABTS	<i>2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
BHA	<i>Butylated hydroxyanisole</i>
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene</i>
LAMBANG	NAMA
°C	Derajat celcius
%	Persen
<	Kurang dari
>	Lebih dari

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Peningkatan pola hidup tidak sehat, paparan terhadap polusi lingkungan, dan gaya hidup yang kurang aktif mengakibatkan munculnya risiko penyakit degeneratif (Karwiti *et al.*, 2023). Hasil data dari Riskesdas (2018) persentase penyakit degeneratif di Indonesia sebesar 65,7%. Salah satu faktor utama yang berkontribusi pada perkembangan penyakit degeneratif ini adalah stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi yang ditimbulkan dari kemampuan radikal bebas sebagai zat pengoksidasi untuk mendapatkan keadaan stabilnya dengan cara menarik elektron dari molekul atau sel lain di dalam tubuh, sehingga dapat memicu terjadinya kerusakan oksidatif (Sukweenadhi *et al.*, 2020). Hal inilah yang menyebabkan adanya ekspresi gen abnormal, gangguan aktivitas reseptor, proliferasi sel, gangguan imun, mutagenesis, kerusakan jaringan dan berbagai kondisi penyakit. Beberapa penyakit yang ditimbulkan akibat adanya stres oksidatif yaitu penyakit diabetes mellitus, penyakit neurodegeneratif, kanker, penyakit kardiovaskular, dan penuaan (Martemucci *et al.*, 2022). Hal tersebut dapat dicegah dengan penggunaan antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang menyumbangkan elektron ke radikal bebas tidak berpasangan, sehingga mengurangi efek oksidasi radikal bebas, sehingga antioksidan dikenal juga sebagai senyawa yang dapat menangkal radikal bebas (Hidayati *et al.*, 2017; Sukweenadhi *et al.*, 2020). Senyawa antioksidan akan menghambat mekanisme stres oksidatif yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif, dengan cara menyumbangkan elektron

untuk mencapai bentuk stabil. Senyawa alami yang memiliki aktivitas antioksidan dengan mekanisme kerja yang beragam dapat membantu mencegah penyakit tanpa menimbulkan efek negatif/efek samping. Salah satu senyawa alami yang memiliki potensi antioksidan yaitu senyawa fenolik (Chaudhary *et al.*, 2023).

Senyawa fenolik merupakan golongan metabolit sekunder terbesar dalam tumbuhan, dimana ia tersebar secara luas di berbagai organ tanaman dengan kadar yang tinggi seperti dalam daun, buah, biji, atau batang dari tanamannya (Zhang *et al.*, 2022). Beberapa sumber tanaman yang mengandung senyawa fenolik dan telah diuji aktivitas antioksidannya adalah daun jambu biji dan daun sirih hijau. Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) ditemukan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Dimana buah jambu biji kaya akan antioksidan, tetapi daunnya jauh lebih besar memiliki bioaktivitas antioksidan dibandingkan buahnya (Angulo-López *et al.*, 2021). Senyawa bioaktifnya adalah quercetin, yang dapat digunakan untuk mencegah penuaan kulit sebelum waktunya dan membantu dalam menyembuhkan sel kanker (Naseer *et al.*, 2018). Tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki komponen utama yaitu tanin, flavonoid (*quercetin*), eugenol, hidroksikavikol dan chavibetol. Tanaman sirih memiliki kandungan antioksidan yang dimiliki dari ekstraknya yang diyakini berasal dari senyawa fenol dan flavonoid (Azahar *et al.*, 2020). Dalam hal ini senyawa eugenol, hidroksikavikol, dan asam galat diketahui berkontribusi kuat terhadap aktivitas antioksidan, terutama hidroksikavikol dengan dua gugus hidroksil (Rani *et al.*, 2018).

Tanaman jambu biji dan daun sirih hijau kaya akan senyawa metabolit sekunder sehingga banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai antioksidan, antibakteri, antidiare, dan antiinflamasi (Andrianto *et al.*, 2020; Fitriyah *et al.*, 2022). Tanaman sirih memiliki penyebutan yang beragam, di Lampung dikenal dengan sebutan “Cambai” dan dimanfaatkan secara luas sebagai penyegar mulut dan penguat gigi. Tanaman jambu biji juga memiliki nama Lampungnya, disebut dengan “Keleppuk” dan tanaman ini dimanfaatkan

oleh masyarakat untuk mandi sebagai pengobatan ibu yang baru melahirkan (Busela) (Leksikowati *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Braga *et al.* (2014) mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) diperoleh nilai inhibisinya sebesar 87,65%. Selain pengujian antioksidan juga dilakukan pengujian total fenolik dan flavonoid ekstrak daun jambu biji sehingga diperoleh nilai kandungan fenolik dan flavonoid masing-masing sebesar 766,08 mg/g dan 118,90 mg/g. Penelitian yang dilakukan oleh Darwis & Lubis (2016) juga membuktikan adanya kandungan antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji menggunakan metode DPPH yaitu sebesar 22,39 ppm.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Gurning *et al.* (2021) terkait uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau menggunakan metode DPPH diperoleh aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 84,656 ppm. Pengujian kandungan antioksidan dalam daun sirih (*Piper betle L.*) yang dilakukan oleh Dzulhijar *et al.* (2022) juga membuktikan bahwa daun sirih memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari pengujian menggunakan metode DPPH yaitu sebesar 33,355 ppm. Selain itu, dibuktikan juga dalam penelitian Akter *et al.* (2014) dengan melakukan pengujian kandungan total fenolik pada ekstrak daun sirih yang menunjukkan hasil bahwa tanaman sirih memiliki aktivitas antioksidan yang baik karena kandungan total fenolik yang diperoleh sebesar 124,42±0,14 mg GAE/g.

Metode analisis instrumen yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dan penentuan kadar total fenolik dapat dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Penggunaan instrumen spektrofotometer ini karena prosesnya yang cepat, mudah, dan murah. Pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan yaitu metode DPPH dan penetapan kadar total fenolik menggunakan metode *folin-ciocalteu*. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dan sudah banyak digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan

seperti asam askorbat, flavonoid, dan asam fenolik. Penggunaan DPPH sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan memiliki banyak keunggulan karena sederhana, murah dan cepat dibandingkan metode lainnya seperti ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) (Christodoulou *et al.*, 2022). Penggunaan metode *folin-ciocalteu* merupakan metode paling umum yang dapat digunakan untuk penentuan kadar total fenolik, dalam pengukurannya telah dikaitkan dengan kapasitas total antioksidan karena total fenolik yang tinggi menandakan bahwa aktivitas antioksidan yang terkandung juga tinggi (Molole *et al.*, 2022).

Penggunaan kombinasi dua ekstrak tumbuhan atau lebih yang memiliki kandungan antioksidan dapat meningkatkan potensi aktivitas antioksidan tersebut menjadi lebih tinggi (Rudiana *et al.*, 2023). Hal ini dibuktikan dari beberapa penelitian terkait kombinasi ekstrak diantaranya kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jambu biji yang menunjukkan hasil adanya aktivitas antioksidan yang kuat (Douw & Wardani, 2023), kombinasi infusa daun sirih, ekstrak tanaman bundung dan kulit jeruk nipis yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang (Nastiti *et al.*, 2021). Namun, untuk kombinasi daun jambu biji dan daun sirih hijau terkait potensi aktivitas antioksidan yang dibuktikan dengan pengujiannya hingga saat ini masih belum diperoleh.

Berdasarkan permasalahan yang telah disebutkan, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan berbagai seri konsentrasi secara tunggal dan kombinasi pada kedua ekstrak menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini juga akan melakukan penetapan kadar total fenolik dalam kombinasi tersebut yang menggunakan metode *folin-ciocalteu*. Dengan demikian, penelitian ini akan memberikan pemahaman lebih lanjut tentang bagaimana potensi aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik dari bentuk tunggal maupun kombinasi daun jambu biji dan daun sirih hijau.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berikut adalah beberapa rumusan masalah yang ada dalam penelitian ini:

- 1.2.1 Bagaimana hasil uji aktivitas antioksidan dan jumlah kadar total fenolik dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau?
- 1.2.2 Apakah terdapat pengaruh dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau terhadap nilai aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik?
- 1.2.3 Bagaimana hubungan kadar total fenolik terhadap nilai  $IC_{50}$  aktivitas antioksidan dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik dari ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau baik dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk kombinasinya.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut:

- 1.3.2.1 Mengetahui hasil pengujian aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau.
- 1.3.2.2 Mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau terhadap nilai aktivitas antioksidan dan jumlah kadar total fenolik.
- 1.3.2.3 Mengetahui hubungan dari jumlah total fenolik terhadap nilai  $IC_{50}$  aktivitas antioksidan bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau.



## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan untuk penelitian selanjutnya terkait potensi pemanfaatan kombinasi dari ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau yang dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan khususnya sebagai tanaman obat alami.

### **1.4.2 Manfaat Bagi Institusi**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan terkait bagaimana hasil pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar total fenolik baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dari ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat alami.

### **1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat luas mengenai potensi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau yang dapat digunakan sebagai tanaman obat alami.

## **1.5 Batasan Penelitian**

Batasan penelitian ini dibuat agar penelitian yang dilakukan lebih terarah dan tidak menyimpang dari tujuan penelitian yang telah ditetapkan. Batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.5.1 Parameter penelitian ini berfokus pada nilai  $IC_{50}$  dan nilai kadar total fenolik dari berbagai macam variasi dosis baik bentuk tunggal maupun dalam kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau
- 1.5.2 Metode uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini hanya fokus pada penggunaan metode DPPH
- 1.5.3 Metode penetapan kadar total fenolik dalam penelitian ini hanya menggunakan metode *folin-ciocalteu*

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Daun Jambu Biji**

##### **2.1.1 Klasifikasi**

Menurut (Angulo-López *et al.*, 2021), klasifikasi taksonomi tanaman jambu biji, sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Orde	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Psidium</i>
Species	: <i>Psidium guajava</i> L

##### **2.1.2 Deskripsi**

Jambu biji berasal dari bahasa Spanyol “guaya”, yang merupakan varian dari bahasa Arawakan (hindia Barat) “guayabo” (Nursanty *et al.*, 2023). Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) merupakan jenis tanaman buah perdu dan bukan merupakan tanaman asli dari Indonesia, tetapi tanaman ini dapat tumbuh dengan subur di wilayah Indonesia juga dikenal oleh masyarakat terutama Asia Tenggara (Fitriyah *et al.*, 2022; Rahma *et al.*, 2023; Wahyuni *et al.*, 2022). Tanaman jambu biji di Indonesia sering disebut dengan jambu batu, jambu klutuk dan jambu siki (Rahma *et al.*, 2023).

Tanaman jambu biji dalam bahasa Lampung dapat disebut dengan “Keleppuk” Berdasarkan kajian etnobotani yang dilakukan oleh Leksikowati *et al.* (2020), masyarakat Lampung, khususnya di bagian Barat, telah lama memanfaatkan tanaman jambu biji sebagai obat tradisional. Tanaman ini dimanfaatkan bagian daunnya yang digunakan dalam praktik mandi uap, terutama oleh ibu yang baru melahirkan.

Pemanfaatan tanaman jambu biji telah meluas dalam berbagai bidang kesehatan, antara lain sebagai antidiare, antimikroba, antioksidan, hepatoprotektif, anti alergi, antispasmodik, antidiabetes, antiinflamasi, dan antitusif, selain itu juga daunnya dapat dimanfaatkan sebagai pengawet alami dan untuk pengobatan demam berdarah (Fitriyah *et al.*, 2022; Rahma *et al.*, 2023).

Parameter ekstrak daun jambu biji berdasarkan Kemenkes (2017)

- Kadar air : Tidak lebih dari 10%
- Abu total : Tidak lebih dari 6,1%
- Abu tidak larut asam : Tidak lebih dari 0,5%

### 2.1.3 Morfologi

Tanaman jambu biji memiliki tingkat variabilitas yang tinggi dalam populasi, dengan ukuran buah yang berbeda, warna daging buah dan kulit, jumlah biji, dan karakteristik morfologi lainnya (Angulo-López *et al.*, 2021). Bentuk buah jambu biji berbentuk bulat, warna kulit buahnya berwarna kuning kehijauan atau hijau. Daging buah jambu biji berwarna merah atau putih dan memiliki rasa yang manis hingga asam (Napitupulu *et al.*, 2021; Rahma *et al.*, 2023).

Tanaman jambu biji memiliki akar tunggang yang akan tumbuh menjadi akar pokok. Akar tanaman ini memiliki warna putih kecoklatan dan terdapat percabang akar yang kecil-kecil (Rahma *et al.*, 2023). Batang tanaman jambu biji memiliki bentuk seperti kerucut atau limas segi

empat dengan warna coklat muda hingga coklat keabuan, sedangkan batang jambu biji yang sudah tua akan menjadi kayu keras seperti gili (Napitupulu *et al.*, 2021; Wahyuni *et al.*, 2022).



**Gambar 2. 1** Tanaman Daun Jambu Biji

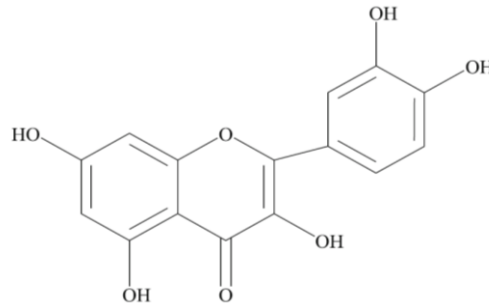
Sumber: dokumentasi pribadi

Panjang daun jambu biji sekitar 10-12 cm, dan memiliki lebar 5-7 cm. Daun jambu biji bersifat tunggal dan memiliki aroma yang khas. Pertulangan daunnya memiliki bentuk yang menyirip. Daun jambu biji memiliki bentuk yang bervariasi, yaitu: bentuk lonjong, jorong, dan bundar telur terbalik. Tepi dari daun rata, agak menggulung ke atas, ujung runcing sampai meruncing. Permukaan bagian atas daun agak licin dan memiliki warna hijau kecokelatan, sedangkan permukaan bawah berwarna hijau (Kemenkes, 2017; Rahma *et al.*, 2023; Wahyuni *et al.*, 2022).

#### **2.1.4 Kandungan kimia**

Metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman jambu biji, yaitu: flavonoid, tanin, alkohol seskuiterpen, asam triterpenoid, dan minyak atsiri (Nursanty *et al.*, 2023). Jambu biji mengandung sangat tinggi vitamin C dan vitamin A sebagai antioksidan. Kandungan antioksidan penting lainnya yang terkandung dalam jambu biji antara lain asam ferulic, asam askorbat, quercetin, asam galat dan asam caffeic yang tinggi (Naseer *et al.*, 2018). Kandungan hasil pemurnian dari daun jambu biji, yaitu menghasilkan isolasi quercetin, dimana kandungan tersebut dapat dijadikan sebagai aktivitas antibakteri serta memiliki sifat sebagai

antioksidan, juga mampu dalam mengobati diare, gastroenteritis, plak gigi, jerawat dan memiliki efek mengurangi frekuensi batuk. Daun jambu biji memiliki kandungan senyawa fenolik yang lebih banyak dibandingkan dengan bagian pohon lainnya (Angulo-López *et al.*, 2021).



**Gambar 2. 2** Struktur kimia senyawa quercetin  
Sumber: Naseer *et al.*, 2018

Quercetin merupakan antioksidan paling aktif dan kuat di daun jambu biji, memiliki aktivitas penyeimbang radikal bebas dan daya reduksi jauh lebih tinggi dibandingkan senyawa lainnya (Naseer *et al.*, 2018).

## 2.2 Tanaman Daun Sirih Hijau

### 2.2.1 Klasifikasi

Menurut (Biswas *et al.*, 2022), klasifikasi taksonomi tanaman sirih hijau, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Orde : Piperales  
 Family : Piperaceae  
 Genus : *Piper*  
 Species : *Piper betle* L

### 2.2.2 Deskripsi

Tanaman sirih (*Piper betle* L.) sering disebut sebagai *Golden Heart of Nature* dan merupakan tanaman yang sangat populer di Asia (Andrianto *et al.*, 2020). Tanaman sirih merupakan tanaman merambat yang

termasuk dalam famili Piperaceae dan genus Piper, berasal dari Semenanjung Malaysia bagian tengah dan timur, kemudian yang tersebar ke Afrika Timur hingga negara-negara tropis di Asia (Biswas *et al.*, 2022). genus Piper memiliki lebih dari 1000 spesies di seluruh dunia dan sekitar 300 spesies dapat ditemukan di Asia Tenggara (Azahar *et al.*, 2020).

Masyarakat Lampung terutama orang Lampung asli mengenal tanaman sirih dengan sebutan “Cambai”. Tanaman sirih telah dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Lampung khususnya Bagian Barat, dengan memanfaatkan bagian akar dan daunnya, yaitu sebagai pengobatan pasca ibu melahirkan yang digunakan ketika membersihkan area kewanitaan, serta sebagai obat batuk berdahak dan penguat gigi yang penggunaannya dapat diminum langsung atau dikunyah bagian daunnya (Leksikowati *et al.*, 2020).

Secara luasnya daun sirih hijau dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional untuk obat penyegar mulut, obat cacing, anti alergi, anti jerawat, dan juga sebagai obat untuk penyakit seperti darah tinggi, asma, batuk dan bronkitis (Andrianto *et al.*, 2020; Kuswandi *et al.*, 2023). Suku batak toba, di Sumatera Utara menggunakan daun sirih sebagai obat infeksi mata dan pasca melahirkan, sedangkan suku sanger di kepulauan sangihe menggunakan sebagai obat demam (Andrianto *et al.*, 2020). Selain itu, daun sirih hijau memiliki aktivitas biologi yang tinggi sebagai antioksidan (Bhuvanawari *et al.*, 2014).

Parameter ekstrak daun sirih hijau berdasarkan Kemenkes (2017)

- Kadar air : Tidak lebih dari 10%
- Abu total : Tidak lebih dari 0,3%
- Abu tidak larut asam : Tidak lebih dari 0,1%

### 2.2.3 Morfologi

Tanaman sirih merupakan tumbuhan merambat yang memiliki akar dengan panjang 15 m. Bentuk batang tanaman sirih berbentuk silindris, agak pipih, dan berbuku. Batang muda berwarna hijau muda dan ditandai dengan garis-garis pendek, menonjol, dan garis-garis merah muda di sepanjang simpul, sedangkan batang tua berwarna coklat muda. Daun tanaman sirih hijau memiliki jenis daun tunggal yang berselang-seling dan spiral, terdapat juga bintik-bintik dengan bentuk daun bulat telur atau lonjong yang pangkal daunnya membulat atau berbentuk jantung, sedangkan ujung daun runcing. Panjang daun sekitar 5-18 cm dan lebarnya 2,5-10,75 cm (Hermanto *et al.*, 2023; Kuswandi *et al.*, 2023; Patel *et al.*, 2019). Permukaan bawah daun kasar, kusam dan memiliki warna yang lebih muda dari permukaan atas. Pertulangan daun melengkung, pada permukaan atas agak tenggelam, sedangkan pada permukaan bawah pertulangan daun menonjol (Kemenkes, 2017).

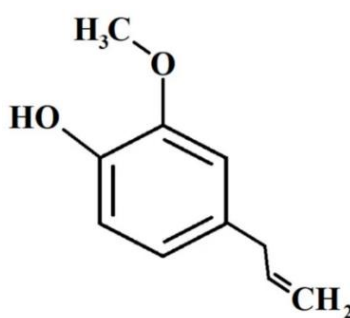


**Gambar 2. 3** Tanaman Daun Sirih Hijau  
Sumber: dokumentasi pribadi

Tanaman sirih memiliki bunga yang sangat kecil dan berkelamin tunggal. Buah tanaman sirih jarang sekali dihasilkan, tapi termasuk dalam jenis buah batu yang memiliki bentuk bulat dengan warna hijau keabu-abuan yang tebalnya sekitar 1-1,5 cm (Hermanto *et al.*, 2023; Kuswandi *et al.*, 2023; Patel *et al.*, 2019).

#### 2.2.4 Kandungan Kimia

Tanaman sirih memiliki senyawa bioaktif seperti tanin, flavonoid (quercetin), eugenol, hidroksikavikol, dan chavibetol yang merupakan komponen utama tanaman (Azahar et al., 2020). Aktivitas antioksidan berkorelasi dengan senyawa fenolik dan kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun sirih terdiri dari jumlah gugus hidroksil dalam struktur molekulnya, seperti eugenol, hidroksilkavikol, dan asam galat yang berkontribusi kuat terhadap aktivitas antioksidan (Karunanithi et al., 2023).



**Gambar 2. 4** Struktur kimia eugenol

Sumber: Ulanowska & Olan, 2021

Senyawa eugenol merupakan senyawa aromatik dalam kelompok fenol. Eugenol memiliki berbagai sifat, seperti antioksidan, analgesik, antimutagenik, anti-platelet, anti alergi, anti pembengkakan, dan anti inflamasi. Eugenol sebagai antioksidan, dapat menangkap radikal bebas, menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif, mencegah produksi bentuk nitrogen reaktif, meningkatkan potensi sito-antioksidan, dan melindungi fungsi DNA dan protein mikroba. Karena sifatnya sebagai antioksidan, eugenol dapat membantu memperbaiki kerusakan oksidatif, menghilangkan molekul yang rusak, dan mencegah mutasi yang dapat berkembang menjadi kanker (Ulanowska & Olan, 2021).



## 2.3 Antioksidan dan Radikal Bebas

### 2.3.1 Radikal Bebas

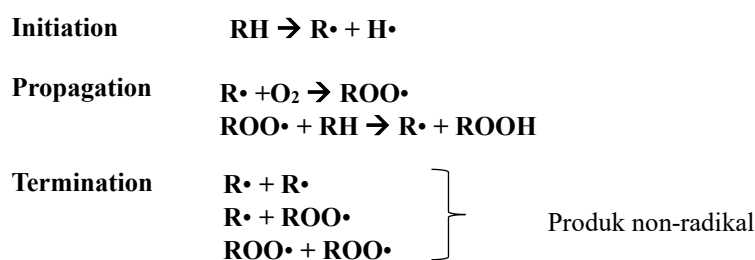
Radikal bebas merupakan suatu molekul yang independen atau mampu hidup mandiri, dan mengandung bentuk elektron tidak berpasangan dalam orbital atom terluarnya atau orbital molekul. Radikal bebas memiliki sifat sangat tidak stabil dan reaktif. Radikal bebas bertindak sebagai oksidan dan reduktor, dimana mereka menyumbangkan atau menerima elektron untuk mendapatkan pasangan elektron agar dirinya stabil (Chaudhary *et al.*, 2023; Martemucci *et al.*, 2022). Jumlah elektron yang ganjil pada suatu radikal bebas menjadikannya tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif. Karena memiliki reaktivitasnya yang tinggi, zat-zat ini mampu mencuri elektron dari senyawa lain untuk mencapai stabilitas. Akibatnya, molekul yang diserang kehilangan elektron dan berubah menjadi radikal bebas, sehingga terbentuknya rangkaian reaksi berantai (Martemucci *et al.*, 2022; Phaniendra *et al.*, 2015). Karena adanya reaksi berantai ini menimbulkan berbagai penyakit di dalam tubuh jika tidak dihentikan (Aryanti *et al.*, 2021).

### 2.3.2 Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan radikal bebas, terbentuk dari sumber endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen terjadi didalam tubuh, seperti aktivitas sel peradangan, infeksi, kanker dan penuaan. Sedangkan radikal bebas eksogen terjadi akibat adanya paparan dari luar, seperti paparan polutan, logam berat (Cd, Hg, Pb, Fe, dan As), asap rokok, radiasi, obat-obat tertentu (siklosporin, gentamisin, dan bleomycin), dan alkohol. Ketika senyawa-senyawa tersebut masuk kedalam tubuh, mereka akan terdegradasi atau dimetabolisme, yang kemudian terbentuklah radikal bebas (Pizzino *et al.*, 2017).

Tahapan mekanisme pembentukan radikal bebas dimulai pada tahap inisiasi, dimana suhu, cahaya, logam berat merupakan faktor yang dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas. Tahap kedua propagasi,

setelah terbentuknya radikal bebas, dimana radikal ( $R\cdot$ ) bereaksi dengan oksigen akan membentuk radikal peroksil ( $ROO\cdot$ ). Radikal peroksil akan bereaksi dengan RH dari suatu molekul sehingga membentuk radikal baru dan hidroperoksida ( $ROOH$ ). Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan mudah terurai membentuk produk primer kemudian produk sekunder. Pada tahap terakhir yaitu terminasi tidak adanya antioksidan, radikal akan bereaksi satu sama lain dan membentuk produk non radikal (Elhachem *et al.*, 2021).



**Gambar 2. 5** Tahapan reaksi radikal bebas  
Sumber: Elhachem *et al.*, 2021

### 2.3.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dan dapat melindungi sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas dengan menunda atau mencegah oksidasi protein, karbohidrat, lipid dan DNA. Antioksidan merupakan molekul yang cukup stabil yang memiliki kemampuan menyumbangkan elektron ke radikal bebas (Martemucci *et al.*, 2022).

Antioksidan memiliki peran sebagai menangkap radikal bebas, donor hidrogen, donor elektron, penguraian peroksida, penghambat enzim dan agen pengkelat logam. Fungsi utama dari antioksidan yaitu mendetoksifikasi spesies reaktif dalam tubuh. Vitamin A, E, dan C merupakan jenis vitamin yang memiliki fungsi sebagai antioksidan (Chaudhary *et al.*, 2023).

Antioksidan memiliki sifat endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang menjadi garis pertama dalam melawan radikal bebas yang ada di dalam tubuh kita, seperti *katalase*, *glutathione peroxidase* dan *glutathione reduktase* atau non-enzim lainnya (*glutathione* dan bilirubin). Sedangkan, antioksidan eksogen adalah senyawa dengan aktivitas antioksidan yang ada didalam makanan atau suplemen, contohnya seperti vitamin E, vitamin C, karotenoid, dan polifenol (Martemucci *et al.*, 2022).

#### 2.3.4 Mekanisme Antioksidan

Antioksidan memiliki 2 mekanisme kerja utama, yaitu: mekanisme pertama; pemutusan rantai dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas dan mekanisme kedua; mengurangi pembentukan radikal bebas dengan menghambat aktivitas katalis yang menghasilkan antioksidan (Chaudhary *et al.*, 2023).

#### 2.3.5 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa penangkal atau yang memiliki sifat menetralkan dampak buruk dari radikal bebas dalam tubuh. Berdasarkan sumbernya, antioksidan terbagi menjadi 2 macam, yaitu: alami dan sintetis (Kholifah *et al.*, 2023).

##### 2.3.3.1 Antioksidan sintetis

Senyawa seperti *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Tert-Butil Hidroksi Buinon* dan *Propil galat* merupakan contoh dari antioksidan sintetis, dimana senyawanya disintesis secara kimia dengan memiliki aktivitas antioksidan (Kamoda *et al.*, 2021). Antioksidan sintetis banyak digunakan sebagai pengganti antioksidan alami karena memiliki stabilitas dan kinerja yang lebih tinggi serta ketersediaannya secara luas. Namun, beberapa penelitian menunjukkan terkait antioksidan sintetis yang digunakan dalam jangka panjang atau

berlebihan dapat menimbulkan masalah kesehatan, seperti alergi kulit atau masalah dalam saluran cerna. Penelitian pada hewan dengan menggunakan BHA dan BHT, ditunjukkan adanya efek buruk pada hati dan menyebabkan karsinogenesis (Lourenço *et al.*, 2019).

#### 2.3.3.2 Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan suatu zat dengan aktivitas antioksidan yang diisolasi murni dari tumbuhan, mikroorganisme, atau jaringan hewan, atau yang terbentuk sebagai hasil pengolahan makanan/daging (Siddeeg *et al.*, 2021).

Berdasarkan asal usulnya senyawa antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, bakteri, dan mineral. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan mengandung senyawa antioksidan yang tinggi, dari beberapa bagian organ pada tanaman tersebut seperti daun, buah, batang atau akarnya (K. A. Fadhil *et al.*, 2023; Flieger *et al.*, 2021). Banyak senyawa dari tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan telah terbukti secara klinis sebagai antioksidan salah satu senyawa yang dikenal sebagai antioksidan alami yaitu senyawa fenolik (Sukweenadhi *et al.*, 2020). Senyawa fenolik, selain sebagai senyawa utama dengan aktivitas antioksidan, juga mempunyai aktivitas antimikroba dan antijamur (Lourenço *et al.*, 2019).

## 2.4 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan dibagi menjadi 2: metode *hydrogen atom transfer* (HAT) dan *electron transfer* (ET). Metode HAT merupakan metode yang digunakan dalam mengukur kemampuan antioksidan yang dilakukan dengan menyumbangkan atom hidrogen untuk menghilangkan

radikal bebas. Sedangkan, metode ET merupakan metode mendeteksi aktivitas antioksidan untuk mentransfer atom dengan mereduksi ion logam, gugus karbonil, dan radikal bebas. (Munteanu & Apetrei, 2021). Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) atau bisa disebut ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dianggap menggunakan kedua metode HAT & ET, karena radikalnya dapat dihilangkan dengan reduksi elektron atau pendinginan radikal yang melibatkan transfer hidrogen (Pisoschi *et al.*, 2016).

### 2.5.1 Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

DPPH merupakan  $\pi$ -radikal dan radikal bebas stabil, ia dimanfaatkan untuk pengujian antioksidan penangkal radikal bebas. (Christodoulou *et al.*, 2022). Dalam pengujian DPPH yang dibutuhkan adalah spektrofotometer dan reagen DPPH, spektrofotometer yang dapat digunakan yaitu dengan Spektrofotometri UV-Vis (Christodoulou *et al.*, 2022; Munteanu & Apetrei, 2021). Reagen DPPH berupa serbuk kristal, berwarna gelap, tersusun dari radikal bebas stabil, umumnya reagen ini digunakan sebagai radikal dan penangkap. DPPH memiliki warna ungu tua ketika dijadikan larutan, tetapi ketika dinetralkan larutan akan menjadi tidak berwarna atau kuning pucat yang artinya pada senyawa yang akan diuji memiliki aktivitas antioksidan. Panjang pita serapan yang dimiliki DPPH berpusat pada 515-520 nm (Christodoulou *et al.*, 2022).

Metode DPPH merupakan metode pengujian yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan cara mengukur kapasitas antioksidan sampel secara keseluruhan sehingga diketahui reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan (Handayany *et al.*, 2018; Theafelicia & Wulan, 2023). Metode ini dapat digunakan untuk sampel padat ataupun cair, tetapi metode ini tidak spesifik terhadap komponen antioksidan tertentu melainkan untuk semua senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel (Theafelicia & Wulan, 2023).

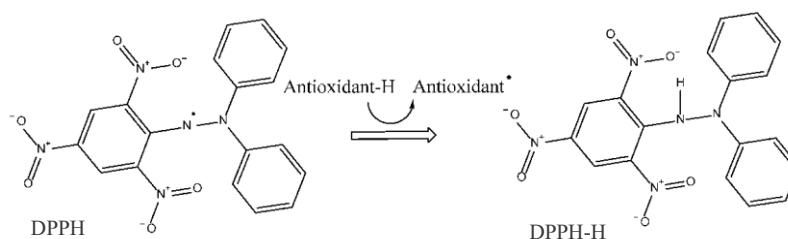
Besarnya kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas dapat dinyatakan sebagai nilai  $IC_{50}$  (*inhibitor concentration*), yaitu konsentrasi larutan uji (antioksidan) yang digunakan untuk menentukan konsentrasi antioksidan yang menangkap 50% radikal DPPH awal dalam interval waktu tertentu. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , semakin tinggi kemampuan antioksidan DPPH dalam menghilangkan radikal. Nilai  $IC_{50}$  secara kuantitatif menggambarkan afinitas pemulungan radikal (Gulcin & Alwasel, 2023).

**Tabel 2. 1** Parameter Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai  $IC_{50}$

No	Nilai $IC_{50}$	Sifat Antioksidan
1	< 50 ppm	Sangat Kuat
2	50 – 100 ppm	Kuat
3	101 – 150 ppm	Sedang
4	151 – 200 ppm	Lemah
5	> 200 ppm	Sangat Lemah

Sumber: Kholifah *et al.*, 2023

Prinsip kerja metode DPPH menggunakan reaksi oksidasi-reduksi, dimana DPPH sebagai senyawa radikal bebas akan larut dengan senyawa polar seperti metanol dan etanol (Theafelicia & Wulan, 2023). Ketika larutan DPPH yang dicampur dengan larutan zat yang memiliki kemampuan mendonorkan atom hidrogen, warna ungu ini hilang dimana dijelaskan sebelumnya, sehingga terjadi reaksi reduksi yang membentuk radikal DPPH (DPPH-H). Pembentukan hidrazin (DPPH-H) terjadi karena reaksi reduksi radikal dari antioksidan yang mentransfer atom hidrogen (pendonor H) yang menyebabkan hilangnya pita. Intensitas warna dari reaksi ini, dengan mudah dibaca oleh spektroskopi UV-Vis (Gulcin & Alwasel, 2023).



**Gambar 2. 6** Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan  
Sumber: Christodoulou *et al.*, 2022

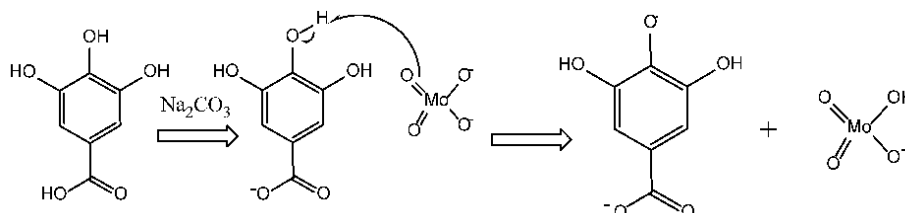
Pemilihan metode DPPH, karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan metode lain dalam pengujian antioksidan yaitu sederhana, murah, cepat, radikal nya stabil, hasilnya dapat diulang dan sangat akurat. Bahkan walaupun memiliki antioksidan yang lemah, untuk waktu inkubasi 30 menit memungkinkan DPPH bereaksi secara efektif (Christodoulou *et al.*, 2022). Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk mengevaluasi kapasitas antioksidan molekul antioksidan murni, terutama ekstrak herbal atau senyawa fenolik (Gulcin & Alwasel, 2023).

## 2.5 Metode Penentuan Total Fenolik Menggunakan Reagen *Folin-Ciocalteu*

Kandungan total fenolik merupakan parameter penting yang dapat digunakan untuk pengukuran kapasitas total antioksidan yang digunakan dalam evaluasi ekstrak antioksidan, seperti ekstrak tanaman herbal. Uji *folin-ciocalteu* merupakan salah satu metode yang dikenal dan banyak digunakan dalam penentuan kadar total fenolik. Uji *folin-ciocalteu* berdasarkan pada senyawa fenolik yang kondisi basa teroksidasi oleh reagen *folin-ciocalteu* (Shahidi & Zhong, 2015). Oleh karena itu, reaksi uji *folin-ciocalteu* ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  pada uji kandungan total fenolik yang tujuannya untuk membuat suasana basa pada pH 10, yang dimana proton pada senyawa fenolik terdisosiasi menjadi ion fenolik (Christodoulou *et al.*, 2022; Martono *et al.*, 2019). Reagen *folin-ciocalteu* merupakan reagen berwarna kuning mengandung kompleks asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat yang ketika direduksi akan menghasilkan kromofor berwarna biru pada serapan maksimum 765 nm (Munteanu & Apetrei, 2021).

Standar referensi yang digunakan dalam pengujian ini yaitu asam galat dan hasil dari pengujian mengenai kandungan total fenolik ini biasanya dinyatakan setara dengan asam galat (Munteanu & Apetrei, 2021). Selain sebagai larutan standar, asam galat digunakan karena senyawa ini sangat sensitif ketika direaksikan dengan *folin-ciocalteu* akan membentuk senyawa kompleks, pembentukan senyawa kompleks ini dikarenakan asam galat memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan adanya gugus hidroksil pada masing-masing cincin

benzena. Sehingga senyawa asam galat ini dianggap sangat sensitif dan intensif (Hilma *et al.*, 2021; Nofita *et al.*, 2022). Gugus hidroksil pada asam galat yang direaksikan dengan reagen *folin-ciocalteu* akan membentuk kompleks molibdenum-tungsten dengan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) dan molibdenum akan mengoksidasi gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa ion fenolik dalam asam galat (Martono *et al.*, 2019).



**Gambar 2. 7** Mekanisme tranformasi reagen *folin-ciocalteu* dengan asam galat  
Sumber: Christodoulou *et al.*, 2022

Metode *folin-ciocalteu* memiliki kelebihan diantara metode lainnya, yaitu sederhana atau mudah digunakannya, cepat, dapat diulang (*reproducible*), sensitif, hasilnya akurat, dimana metode *folin-ciocalteu* untuk menentukan kandungan total fenolik dapat menggunakan spektrofotometer (Christodoulou *et al.*, 2022; Salim *et al.*, 2020).

## 2.6 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan molekul organik kecil yang berasal dari metabolit primer dalam tumbuhan. Sifat kimia dan komposisi metabolit pada tumbuhan bervariasi antar spesies. Penggunaan metabolit pada tumbuhan dimulai sejak 2600 SM, dan dalam 4000 tahun berikutnya, metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan digunakan terutama untuk tujuan pengobatan dan racun serta makanan. Ada tiga kelas utama metabolit pada tumbuhan, yaitu gugus fenolik (terdiri dari gula sederhana dan cincin benzena), terpen dan steroid (terutama terdiri dari karbon dan hidrogen), dan senyawa yang mengandung nitrogen (Twajj & Hasan, 2022).



### 2.6.1 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa terbesar yang ada pada tanaman (Lin *et al.*, 2016). Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki beragam struktur dari molekul fenol sederhana hingga polimer kompleks, yang dimana strukturnya tersusun lebih dari satu gugus hidroksil yang bervariasi dan memiliki cincin aromatik (Diniyah & Lee, 2020). Senyawa fenolik memiliki 2 struktur dasar, struktur pertama dengan cincin C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yang didalamnya termasuk flavonoid, asam fenolik parsial, dan tanin terkondensasi, sedangkan struktur lainnya yaitu C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, termasuk juga asam fenolik parsial dan tanin terhidrolisis (Zhang *et al.*, 2022).

Senyawa fenolik memiliki keunggulan sebagai agen anti penuaan, anti inflamasi, antioksidan dan antiproliferatif. Tiga senyawa fenolik yang penting bagi kesehatan dalam tubuh, yaitu asam fenolik, flavonoid dan tanin, dimana mereka memiliki sifat dapat menghambat  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amylase (Borrelli & Trono, 2016; Lin *et al.*, 2016).

Senyawa fenolik mempunyai korelasi dengan aktivitas antioksidan, karena senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil, dimana gugus ini mampu mendonorkan hidrogen sehingga menyebabkan reaksi netralisasi radikal bebas yang mengawali proses oksidasi atau menghentikan reaksi berantai radikal yang terjadi (Andriani & Murtisiwi, 2018; Kumaradewi *et al.*, 2021).

Flavonoid merupakan senyawa fenol dengan struktur (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yang terdapat pada bagian atau organ tanaman yang dapat dimakan seperti, buah, daun, umbi-umbian, kacang-kacangan, teh, dan kopi. Jenis flavonoid yang dapat ditemukan di alam yaitu: flavon, flavonon, flavanon, isoflavon dan antosianin (Borrelli & Trono, 2016).

Tanin merupakan oligomer dan polimer dengan jumlah terbesar yang dapat membentuk kompleks dengan pati, protein, selulosa, dan mineral. Senyawa ini banyak ditemukan dalam sereal, biji-bijian, terutama pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Tanin dikelompokkan menjadi 2 klasifikasi, yaitu tanin terhidrolisis (asam galat atau asam epigalat yang terkondensasi menjadi glukosa) dan tanin terkondensasi (polimer katekin dan epikatekin) (Borrelli & Trono, 2016; Zhang *et al.*, 2022).

### **2.6.2 Terpenoid dan Steroid (Terpen)**

Terpen merupakan metabolit sekunder yang berasal dari unit isoprena (2-metil-1,3 butadiena). Terpen merupakan senyawa metabolit yang penting, senyawa ini memiliki unsur utama minyak atsiri di berbagai jenis tanaman dan bunga. Senyawa terpen dan turunannya dapat digunakan sebagai bahan tambahan perasa alami pada makanan, juga sebagai wewangian, serta dalam pengobatan tradisional dan alternatif seperti aromaterapi. Terpenoid merupakan turunan dari senyawa terpen atau terpen yang telah dimodifikasi, sedangkan steroid sendiri merupakan turunan dari triterpen squalene (Roba, 2021). Kelompok senyawa triterpen lainnya yang terakumulasi sebagai glikosida (saponin) metabolit sekunder glikosilasi (aglikon bernama sapogenin) dengan kemampuan dapat menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun (A. Hussein & A. El-Anssary, 2019; Chandrasekara & Shahidi, 2018).

### **2.6.3 Senyawa yang Mengandung Nitrogen**

Alkaloid merupakan salah satu senyawa yang mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik. Kelompok ini memiliki beberapa senyawa yang paling terkenal, seperti kafein, nikotin, kokain, dan morfin, yang dikenal karena efek ansiolitik, analgesik, dan halusinogennya, dan seringkali memiliki efek fisiologis pada sistem saraf pusat. Alkaloid memiliki rasa yang pahit. Alkaloid pada mikroorganisme dianggap berperan dalam perkecambahan dan melindungi tanaman dari predator, khususnya herbivora dan mikroba (Teoh, 2016; Twaij & Hasan, 2022).

## 2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode awal untuk memisahkan suatu zat alami dari bahan mentahnya yang menggunakan pelarut dalam proses ekstraksinya. Ada beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan dari metode konvensional hingga modern. Metode ekstraksi konvensional antara lain maserasi, perkolasi, dan ekstraksi refluks, yang biasanya metode ini menggunakan pelarut organik dalam jumlah besar dan membutuhkan waktu ekstraksi yang lama. Ada beberapa tahapan yang terjadi dalam melakukan ekstraksi pada produk alami, meliputi: (1) pelarut akan menembus ke dalam matriks padat (serbuk simplisia); (2) zat terlarut (senyawa yang memiliki sifat yang sama) akan larut dalam pelarut; (3) zat terlarut berdifusi keluar dari matriks padat; (4) zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan (filtrasi) (Alara *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2018).

Pentingnya pemilihan metode dan pelarut yang digunakan dalam melakukan ekstraksi tanaman merupakan langkah yang diperlukan agar mendapatkan konsentrasi senyawa alami yang optimal dalam ekstrak (Zhang *et al.*, 2018). Pemilihan pelarut tergantung dari jenis tanaman, bagian tanaman yang akan diekstraksi dan sifat dari senyawa bioaktif yang ingin ditarik, serta ketersediaan pelarutnya. Secara umum, pelarut polar digunakan untuk mengekstraksi senyawa polar, seperti air, metanol, dan etanol. Begitupun sebaliknya, pelarut nonpolar (heksana dan kloroform) digunakan dalam ekstraksi senyawa nonpolar (Abubakar & Haque, 2020).

**Tabel 2. 2** Macam-Macam Pelarut Berdasarkan Kepolarannya

Pelarut	Kepolaran
<i>n</i> -Heksan	0,009
Etil asetat	0,228
Kloroform	0,259
<i>n</i> -Butanol	0,586
Etanol	0,654
Metanol	0,762
Air	1,000

Sumber: Abubakar & Haque, 2020

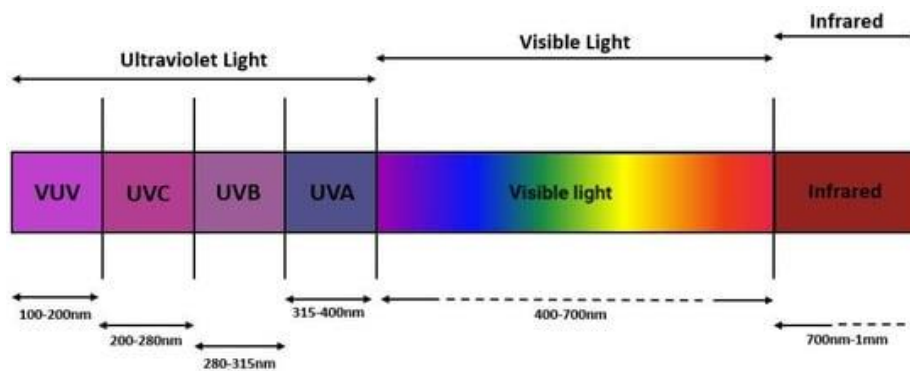
Pemilihan etanol sebagai pelarut yang digunakan karena etanol memiliki kemampuan untuk mengekstrak senyawa fenolik dan glikosidanya (Lohvina *et al.*, 2022). Penggunaan etanol sebagai pelarut ekstraksi juga dinilai memberikan banyak keunggulan dibandingkan pelarut organik lainnya, yaitu relatif lebih aman (kurang toksik). Etanol absolut mengandung 0,01% volume air. Tingginya konsentrasi air yang terkandung dalam etanol mempengaruhi polaritas pelarut etanol, artinya semakin banyak air yang terkandung di dalam etanol, maka kepolarannya akan semakin tinggi dibandingkan dengan etanol absolut. Penggunaan pelarut dengan polaritas tinggi dapat menyebabkan golongan senyawa dalam ekstrak yang ditarik lebih luas juga polaritasnya. Hal ini yang menyebabkan senyawa polar non-fenolik seperti karbohidrat dan protein dapat tertarik selama proses ekstraksi sehingga hasil ekstraksi meningkat atau meluas senyawanya (Hikmawanti *et al.*, 2021).

### 2.7.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa fenolik. Metode ini dalam mentransfer bahan kimia target ke dalam pelarut menggunakan teknik hukum kesamaan dan *inter miscibility (like dissolves like)* (Shi *et al.*, 2022). Proses ekstraksi dengan metode maserasi diawali dengan penghalusan simplisia tanaman menjadi partikel atau serbuk halus untuk meningkatkan luas permukaan dan meningkatkan pencampuran dengan pelarut. Kemudian, bahan dicampur dengan pelarut hingga terendam dan disimpan dalam wadah tertutup, minimal selama tiga hari. Diaduk secara berkala. Pada akhir ekstraksi, residu dipisahkan dari filtratnya dengan penyaringan atau dekantasi. Selanjutnya filtrat akan dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan dalam oven atau di atas penangas air, untuk mendapatkan ekstrak kentalnya (Abubakar & Haque, 2020; Tesoro *et al.*, 2022). Pemilihan maserasi sebagai metode ekstraksi karena sederhana dan biaya yang dibutuhkan rendah. Selain itu, ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi cocok untuk senyawa yang termolabil (Zhang *et al.*, 2018).

## 2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektroskopi adalah suatu pengukuran dengan mengamati molekul atau atom atau ion pada suatu sampel berpindah dari keadaan energi satu ke keadaan energi lainnya yang diinterpretasikan oleh *Electromagnetic Radiation* (EMR) (Verma & Mishra, 2018). Teknik spektroskopi yaitu suatu sampel akan memantulkan atau menyerap jumlah radiasi tertentu seperti sinar atau cahaya (foton) yang akan datang pada intensitas sinar/cahaya tertentu dan pada panjang gelombang tertentu. Teknik spektrofotometri dan spektroskopi dapat digunakan untuk menganalisis kemurnian, mengukur % kandungan dalam campuran, menganalisis interaksi yang terjadi berupa penyerapan atau pemantulan warna suatu zat/larutan berwarna yang dapat dideteksi dan ditentukan secara kuantitatif (Dadi & Yasir, 2022). Rentang panjang gelombang spektrofotometri UV-Vis yaitu 200-780 nm. Instrumen spektrofotometer terdiri dari sumber cahaya, monokromator, kompartemen sampel, dan detektor (Ferysiuk & Wójciak, 2019).



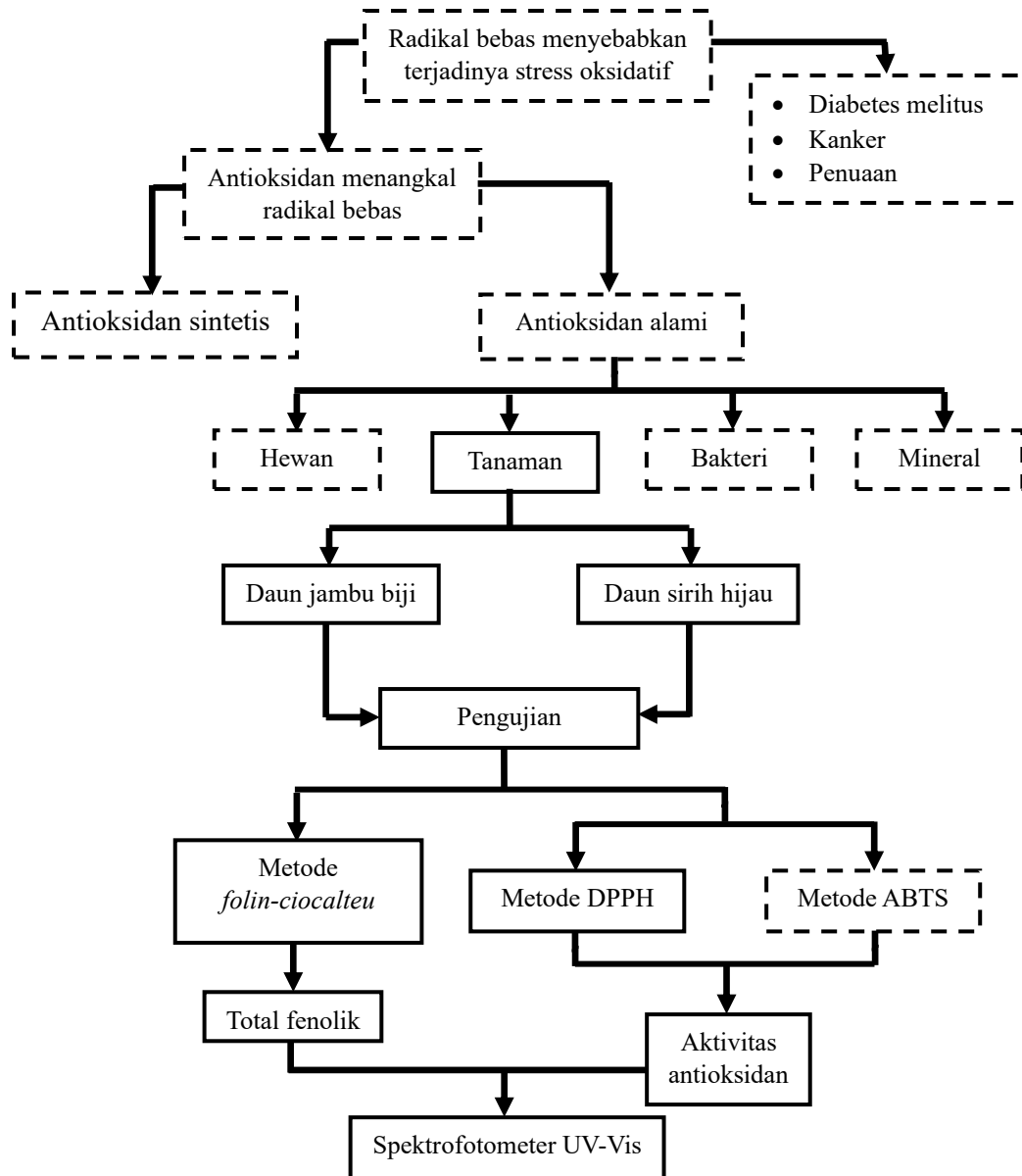
**Gambar 2. 8** Spektrum Elektromagnetik  
Sumber: Palma *et al.*, 2022

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang padat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa yang ada dalam ekstrak tumbuhan. Ekstrak tumbuhan memiliki berbagai metabolit sekunder seperti fenol, antosianin, dan tanin, dimana mereka dapat dideteksi pada frekuensi tertentu. Kandungan fenolik total dan metabolit sekunder lainnya dapat ditentukan dengan menggunakan teknik ini (Abubakar & Haque, 2020).

Prinsip kerja dari spektrofotometri UV-Vis yaitu untuk mendapatkan spektrum serapan suatu senyawa dalam larutan atau padatan. Sebuah molekul atau ion ketika diserap akan menunjukkan daerah tampak atau ultraviolet ketika radiasi menyebabkan transisi elektronik dalam strukturnya. Dengan demikian, suatu sampel yang menyerap cahaya pada daerah ultraviolet atau daerah tampak (*visible*) disertai dengan perubahan keadaan elektronik molekul-molekul dalam sampel. Energi yang disuplai oleh cahaya akan mendorong elektron dari orbital keadaan dasarnya ke orbital keadaan tereksitasi atau orbital anti-ikatan yang berenergi lebih tinggi (Verma & Mishra, 2018).

Spektrofotometri digunakan dalam pengujian karena tergolong cepat jika dibandingkan dengan metode lain. Umumnya spektrofotometri UV-Vis mengidentifikasi senyawa yang memiliki gugus kromofor dan gugus auksokrom (Sahumena & Djuwarno, 2020). Gugus kromofor merupakan gugus dengan ikatan terkonjugasi dan gugus auksokrom adalah gugus yang terikat dengan gugus kromofor yang memiliki pasangan elektron bebas (Bhernama, 2015).

## 2.9 Kerangka Teori



Gambar 2. 9 Kerangka Teori

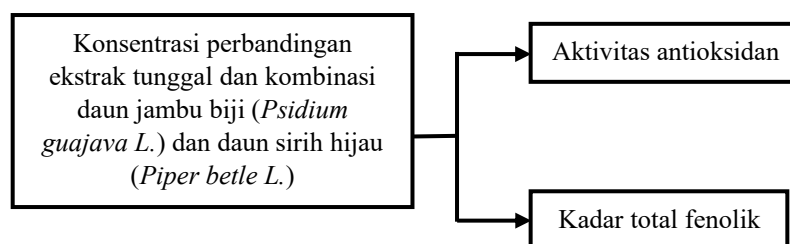
Keterangan:

: Diteliti

: Tidak diteliti

## 2.10 Kerangka Konsep

Konsep dari penelitian ini, digambarkan sebagai berikut:



**Gambar 2. 10** Kerangka konsep

## 2.11 Hipotesis

Berdasarkan konseptual diatas, dapat dirumuskan suatu hipotesis sebagai berikut:

H1.1 : Terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  dari aktivitas antioksidan bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau

H1.2 : Terdapat perbedaan nilai kadar total fenolik bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau

H1.3 : Ada hubungan antara nilai kadar total fenolik dengan nilai  $IC_{50}$  dari aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau

H0.1 : Tidak terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  dari aktivitas antioksidan bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau

H0.2 : Tidak terdapat perbedaan nilai kadar total fenolik bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau

H0.3 : Tidak ada hubungan antara nilai kadar total fenolik dengan nilai  $IC_{50}$  dari aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratories* dimana pada penelitian ini menguji secara langsung aktivitas antioksidan dan penentuan kadar total fenolik terhadap kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan menggunakan berbagai perbandingan konsentrasi.

#### **3.2 Waktu dan Tempat**

##### **3.2.1 Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari-Maret 2024.

##### **3.2.2 Tempat**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, untuk tahapan determinasi tanaman
2. Laboratorium Farmasetika Fakultas Kedokteran, untuk tahapan preparasi sampel dari pembuatan simplisia hingga ekstraksi daun jambu biji dan daun sirih hijau
3. Laboratorium Analisis Farmasi Fakultas Kedokteran, untuk tahapan pembuatan ekstrak kental, penapisan fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dan penetapan kadar total fenolik

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vial coklat, labu ukur (Pyrex<sup>®</sup>), gelas kimia (Iwaki<sup>®</sup>), gelas ukur (Iwaki<sup>®</sup>), tabung reaksi (Iwaki<sup>®</sup>), batang pengaduk (Pyrex<sup>®</sup>), pipet tetes (Pyrex<sup>®</sup>), mikropipet (DLAB<sup>®</sup>), pipet volume (Iwaki<sup>®</sup>), bejana/wadah untuk maserasi (DLX Glass<sup>®</sup>), *chopper* (Vishal<sup>®</sup>), *oven* (Mettler<sup>®</sup>), satu set *kuvet* (Shimadzu<sup>®</sup>), spektrofotometer Uv-Vis (Shimadzu UV-1900i<sup>®</sup>), corong (Fujinex<sup>®</sup>), kertas saring (Sentra Kimia<sup>®</sup>) dan kain saring yang digunakan untuk menyaring filtrat hasil ekstraksi, timbangan analitik (Shimadzu<sup>®</sup> dan Optika<sup>®</sup>), timbangan digital (SF400<sup>®</sup>), aluminium foil (Klinpak<sup>®</sup>), dan *rotary evaporator* (IKA<sup>®</sup>).

#### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.), DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (Sigma-aldrich<sup>®</sup>), etanol 70% (Teknis), vitamin C (asam askorbat) (Merck<sup>®</sup>), asam galat (Merck<sup>®</sup>), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (natrium karbonat) (Merck<sup>®</sup>), aquades (Water One<sup>®</sup>), dan *folin-ciocalteu* (Merck<sup>®</sup>).

##### 3.3.2.1 Tanaman Uji

Daun jambu biji dan daun sirih hijau yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Dusun Satyasakti, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur. Tanaman jambu biji yang digunakan adalah jenis dengan buah berwarna putih. Kriteria daun yang digunakan harus berupa daun segar tanpa cacat fisik (tidak berlubang) dan daun berwarna hijau tua (daun jambu biji) atau hijau hingga hijau tua (daun sirih hijau).

### 3.4 Definisi Operasional

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan konsentrasi perbandingan (1:0), (1:2), (1:1), (2:1), dan (0:1).

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau.

**Tabel 3. 1** Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<b>Variabel Bebas</b>				
Konsentrasi perbandingan kombinasi ekstrak	Dosis kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau	Timbangan/neraca analitik	Konsentrasi perbandingan ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau (1:0), (1:2), (1:1), (2:1), dan (0:1). Keterangan: - Dosis (1:0) atau (0:1) yaitu 100 mg. - Dosis (2:1) yaitu 67 mg : 33 mg, dan (1:2) yaitu 33 mg : 67 mg. - Dosis (1:1) yaitu 50 mg : 50 mg.	Nominal
<b>Variabel Terikat</b>				
Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak	Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau	Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menggunakan spektrofotometer UV-Vis	% IC <sub>50</sub> (Inhibitory Concentration 50%) Kategori: • Sangat kuat, nilai IC <sub>50</sub> <50 µg/mL 5.1 Kuat, nilai IC <sub>50</sub> = 50-100 µg/mL • Sedang, nilai IC <sub>50</sub> = 101-150 µg/mL • Lemah, nilai IC <sub>50</sub> >150 µg/mL	Rasio
Total fenolik kombinasi ekstrak	Kadar total senyawa fenolik yang terkandung dalam kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau	Metode Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometri UV-Vis	GAE ( <i>Gallic Acid Equivalent</i> ) sebagai acuan pengukuran senyawa fenol dalam suatu bahan, yang dinyatakan dalam bentuk mg GAE/g	Rasio

### 3.5 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dengan nomor etik yaitu 124/UN.26.18/PP.05.02.00/2024 yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

### 3.6 Tahapan penelitian

#### 3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun jambu biji dan daun sirih hijau dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung.

#### 3.6.2 Persiapan Sampel

Tahapan pembuatan serbuk simplisia daun jambu biji dan daun sirih hijau dimulai dari tahapan sortasi basah. Pada tahapan sortasi basah dilakukan pemisahan bagian tanaman yang tidak digunakan dan kotoran yang terbawa, setelah tahapan sortasi basah daun dicuci dengan air yang mengalir, kemudian dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan kombinasi sinar matahari tidak langsung (ditutupi dengan kain hitam) selama 3 hari dan oven dengan suhu 50°C selama 4 jam. Setelah daun jambu biji dan daun sirih hijau kering kemudian dilakukan tahapan sortasi kering. Daun jambu biji dan daun sirih hijau kemudian dihaluskan untuk mendapatkan serbuk simplisia (Kemenkes, 1995; Sekarsari *et al.*, 2019).

#### 3.6.3 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Tahapan ekstraksi dimulai dengan menimbang masing-masing 500 g daun jambu biji dan daun sirih hijau kemudian dilakukan perendaman dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2500 ml (1:5). Proses ekstraksi maserasi ini dilakukan selama 3 hari, setiap harinya diberikan intervensi pengadukan serta pergantian pelarut. Pada hasil ekstraksi hari

pertama dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring, sehingga didapatkan filtrat dan residu. Filtrat kemudian diambil dan disimpan ke dalam wadah maserator, kemudian residu yang dihasilkan dilakukan maserasi kembali sebanyak 2 kali dalam 2 hari dengan pelarut etanol 70% setengah dari volume awal yang digunakan (1250 ml). Hasil ekstraksi didapat 3 filtrat, yang kemudian dicampurkan untuk dilakukan pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Sehingga didapatkan ekstrak kental daun jambu biji dan daun sirih hijau (Kemenkes, 2017; Saryanti *et al.*, 2020).

Perhitungan rendemen ekstrak simplisia:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk simplisia}} \times 100\%$$

(Lisdiani *et al.*, 2022)

### 3.7 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk melihat kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak daun jambu biji. Tahapan penapisan fitokimia dimulai dengan membuat larutan stok untuk masing-masing ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau, dengan menimbang sebanyak 1 gram ekstrak kemudian dilarutkan dalam etanol 70% dalam labu ukur 100 ml (Lisdiani *et al.*, 2022).

#### 3.7.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 2 ml larutan stok masing-masing ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 g serbuk magnesium (Mg) dan 5 tetes HCl pekat (sebagai pereaksi shinoda). Hasil positif menunjukkan hasil reaksi larutan berwarna kuning, jingga hingga warna merah (Harbone, 1998; Lisdiani *et al.*, 2022).

### 3.7.2 Uji Fenolik

Sebanyak 5 ml larutan stok diambil dari masing-masing ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3-4 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan hasil reaksi larutan berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Harbone, 1998; Lisdiani *et al.*, 2022).

### 3.7.3 Uji Tanin

Sebanyak 2 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau diambil, kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  10%. Hasil positif tanin ditunjukkan dengan perubahan warna biru tua atau hijau kehitaman, serta menambah gelatin untuk memastikan keberadaan tanin dengan terbentuknya endapan putih (Kumaradewi *et al.*, 2021; Nurcholis *et al.*, 2022).

### 3.7.4 Uji Alkaloid

Ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau diambil masing-masing sebanyak 1 ml dan ditambahkan 2 tetes kloroform, juga 2 tetes pereaksi meyer. Hasil positif yang ditunjukkan dari reaksi alkaloid terbentuknya endapan putih (Sudira *et al.*, 2019).

### 3.7.5 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml air panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama kurang lebih 10 menit dan tingginya 1-10 cm (Harbone, 1998; Lisdiani *et al.*, 2022).

### 3.7.6 Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1 ml larutan stok ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 ml kloroform dan 10 tetes asam asetat anhidrat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat). Tambahkan juga 3 tetes asam sulfat melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan reaksi warna biru atau hijau, sedangkan positif terpenoid terjadinya reaksi warna merah atau ungu (Harbone, 1998; Lisdiani *et al.*, 2022).

### 3.8 Konsentrasi Kombinasi Ekstrak

Pada penelitian ini dibuat 5 konsentrasi perbandingan dari kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau. Berikut konsentrasi perbandingan dari kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau yang akan digunakan dalam penelitian ini:

**Tabel 3. 2** Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau

No	Perbandingan	Daun Jambu Biji	Daun Sirih Hijau
1	1 : 0	100 mg	-
2	1 : 2	33 mg	67 mg
3	1 : 1	50 mg	50 mg
4	2 : 1	67 mg	33 mg
5	0 : 1	-	100 mg

Sumber: Himawan *et al.*, 2021

### 3.9 Penetapan Kadar Total Fenolik

#### 3.9.1 Pembuatan Larutan Reagen $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 7%

Sebanyak 3,5 mg serbuk  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ditimbang, kemudian dilarutkan dengan aquades dan dikocok hingga homogen. Lalu cukupkan aquades hingga 50 ml (Sam *et al.*, 2016).

### 3.9.2 Pembuatan Larutan Baku Asam Galat

Sebanyak 100 mg asam galat dan dilarutkan dengan 60 ml etanol dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan hingga homogen. Setelah larut dicukupkan hingga tanda batas dengan etanol. Sehingga didapat larutan baku asam galat 1000 ppm (1000  $\mu\text{g/ml}$ ). Dibuat seri larutan asam galat dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60  $\mu\text{g/ml}$ . (Nerdy & Manurung, 2018).

### 3.9.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan asam galat 40  $\mu\text{g/ml}$  dipipet sebanyak 5,0 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Diambil 0,5 ml larutan asam galat 40  $\mu\text{g/ml}$ , kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan pereaksi *folin-ciocalteu* dan 7,5 ml aquades kedalam labu ukur tersebut, lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 1 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% hingga tanda batas dan dicampurkan hingga homogen. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Nerdy & Manurung, 2018).

### 3.9.4 Pembuatan Kurva Baku Larutan Asam Galat

Dipipet masing-masing konsentrasi asam galat (20, 30, 40, 50, dan 60 ppm) sebanyak 0,5 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan pereaksi *folin-ciocalteu* dan 7,5 ml aquades kedalam labu ukur tersebut, lalu dikocok dan didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% hingga tanda batas, lalu campurkan hingga homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 40 menit. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorban. Dilakukan 3 kali pengulangan analisis (Nerdy & Manurung, 2018).



### 3.9.5 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan Larutan uji kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan mencampurkan masing-masing ekstrak hasil dari ekstraksi dengan metode maserasi. Perbandingan (1 : 2) dengan menimbang 33 mg ekstrak daun jambu biji dan 67 mg ekstrak daun sirih hijau. Pada perbandingan (2 : 1), ditimbang 67 mg ekstrak daun jambu biji dan 33 mg ekstrak daun sirih hijau. Selanjutnya pada kombinasi ekstrak perbandingan (1 : 1), masing-masing ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau ditimbang sebanyak 50 mg. Untuk perbandingan (1 : 0) dan (0 : 1) ditimbang ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau sebanyak 100 mg. Dari kombinasi ekstrak yang telah dibuat kemudian masing-masing kombinasi dibuat larutan dengan konsentrasi 1000 ppm (Himawan *et al.*, 2021).

### 3.9.6 Penentuan Kadar Total Fenolik

Dipipet masing-masing konsentrasi dari kombinasi larutan uji sebanyak 0,5 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan pereaksi *folin-ciocalteu* dan 7,5 aquades ke dalam labu ukur tersebut, lalu dikocok dan didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% hingga tanda batas dan homogen, didiamkan pada suhu ruang selama 40 menit. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi larutan uji ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) dengan absorbansi. Dilakukan 3 kali pengulangan analisis (Nerdy & Manurung, 2018).

### 3.9.7 Perhitungan

Analisis data kadar total fenolik ditunjukkan dengan dibuat kurva standar dari persamaan regresi linear dari data absorbansi dan konsentrasi larutan standar, dengan persamaan  $y = bx + a$ , untuk mencari konsentrasi yang akan dimasukkan dalam rumus total fenolik.

Kemudian dihitung kadar total fenolik sebagai miligram asam galat per gram berat ekstrak kering menggunakan rumus, sebagai berikut:

$$C = \frac{X \cdot V \cdot Fp}{g}$$

Keterangan, C	= Total fenolik (mg GAE/g)
X	= Konsentrasi kandungan fenolik (mg/ml)
V	= Volume ekstrak (ml)
Fp	= Faktor pengenceran
g	= Berat sampel (g)

(Wilorianza *et al.*, 2023)

### 3.10 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

#### 3.10.1 Pembuatan Larutan DPPH

Dibuat pereaksi DPPH dengan ditimbang sebanyak 5 mg DPPH yang dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 50 mL. Sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian disimpan pada suhu ruang dan ditutupi dengan aluminium foil agar terlindung dari sinar matahari (Himawan *et al.*, 2021).

#### 3.10.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Ukur absorbansi panjang gelombang maksimum larutan DPPH dengan Spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm. Dengan cara pipet 5 ml larutan DPPH 100 ppm ke dalam labu ukur 10 ml, ditambah etanol hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diukur serapan maksimumnya, nilai absorbansi larutan DPPH tertinggi digunakan sebagai panjang gelombang optimum untuk pengukuran sampel (Himawan *et al.*, 2021; Ridwanto *et al.*, 2023).

#### 3.10.3 Pembuatan Larutan Baku Asam askorbat

Dibuat larutan pembanding aktivitas antioksidan yaitu dengan asam askorbat (vitamin C). Sebanyak 100 mg asam askorbat ditimbang dan dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100 ml (Larutan baku asam

askorbat dengan konsentrasi 1000 ppm). Kemudian dibuat seri larutannya dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/ml yang diencerkan dengan etanol dalam labu ukur 10 ml (Himawan *et al.*, 2021).

#### **3.10.4 Pembuatan Kurva Baku Asam Askorbat**

Dipipet masing-masing konsentrasi sebanyak 4 ml dari larutan asam askorbat (2, 4, 6, 8, dan 10 ppm), kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm dalam kuvet. Larutan diinkubasi selama 30 menit yang diperoleh pada suhu ruang dan terlindungi dari cahaya. Ukur absorbansi larutan kontrol positif asam askorbat menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh. Kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi antioksidan dengan absorban. Lakukan 3 kali pengulangan (Himawan *et al.*, 2021).

#### **3.10.5 Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan Larutan uji kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan mencampurkan masing-masing ekstrak hasil dari ekstraksi dengan metode maserasi. Perbandingan (1 : 2) dengan menimbang 33 mg ekstrak daun jambu biji dan 67 mg ekstrak daun sirih hijau. Pada perbandingan (2 : 1), ditimbang 67 mg ekstrak daun jambu biji dan 33 mg ekstrak daun sirih hijau. Selanjutnya pada kombinasi ekstrak perbandingan (1 : 1), masing-masing ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau ditimbang sebanyak 50 mg. Untuk perbandingan (1 : 0) dan (0 : 1) ditimbang ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau sebanyak 100 mg. Dari kombinasi ekstrak yang telah dibuat kemudian masing-masing kombinasi dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dari larutan tersebut masing-masing kombinasi ekstrak dibuat seri larutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml (Himawan *et al.*, 2021).

### 3.10.6 Penetapan Aktivitas Antioksidan

Dipipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml dari larutan uji (20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml), kemudian ditambahkan 2 ml larutan DPPH 100 ppm dalam kuvet. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan terlindungi dari cahaya. Ukur absorbansi larutan uji kombinasi ekstrak menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh. Dilakukan pengukuran dengan tiga kali pengulangan. Kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi antioksidan (µg/mL) dengan absorbansi (Himawan *et al.*, 2021).

### 3.10.7 Perhitungan

Analisis data pengamatan uji aktivitas antioksidan pada masing-masing kombinasi ekstrak dengan berbagai konsentrasinya diperoleh dari spektrofotometri UV-Vis, kemudian perhitungan aktivitas antioksidannya ditentukan dari % inhibisi terhadap radikal DPPH menggunakan rumus, sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Dari data yang diperoleh dibuat kurva hubungan konsentrasi sampel (sumbu x) dan % inhibisi (sumbu y), untuk mendapatkan persamaan sebagai berikut (Himawan *et al.*, 2021):

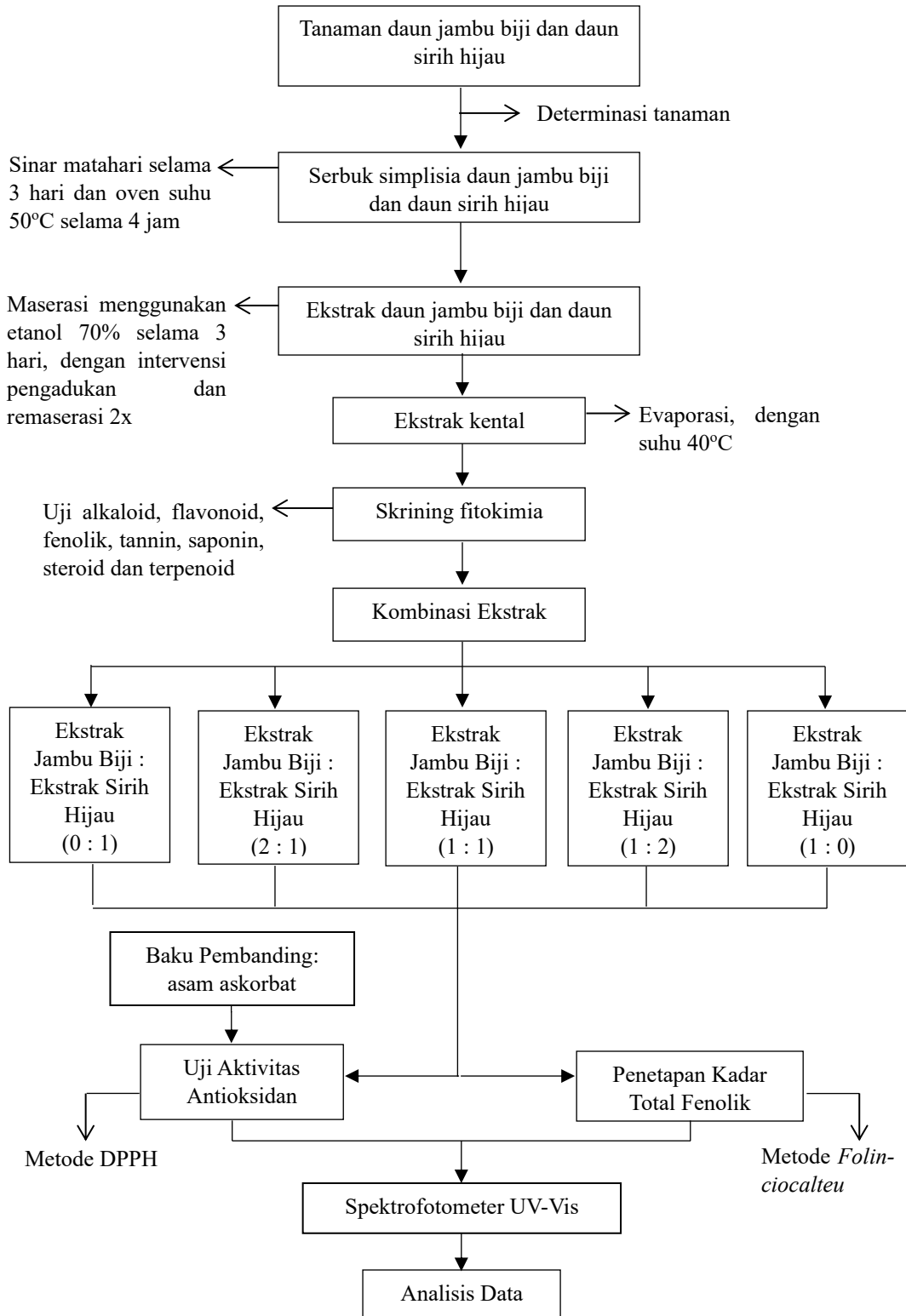
$$y = bx + a$$

Persamaan tersebut untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>, dengan dimasukkan y = 50. Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration 50%*) yang merupakan parameter untuk mengukur aktivitas antioksidan sampel uji, sebagai konsentrasi antioksidan yang dibutuhkan untuk menurunkan konsentrasi/menangkal radikal bebas (DPPH) awal sebesar 50% (Rivero-Cruz *et al.*, 2020).

### 3.11 Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan dengan menggunakan *software* IBM SPSS Statistik versi 26. Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis data dilanjutkan dengan uji *one-way* ANOVA untuk melihat pengaruh perbedaan nilai  $IC_{50}$  dan nilai kadar total fenolik terhadap konsentrasi ekstrak tunggal dan kombinasinya. Data aktivitas antioksidan (nilai  $IC_{50}$ ) dan total kadar fenolik dilakukan uji *correlation*. Analisis data dari hasil percobaan dilakukan secara statistik pada tingkat kepercayaan 95% ( $p\text{-value} < 0,05$ ) (Amalia *et al.*, 2023; Pujiastuti & Ma'rifah, 2022).

### 3.12 Alur Penelitian



**Gambar 3. 1** Alur Penelitian

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

- 5.1.1 Aktivitas antioksidan yang diukur dengan metode DPPH pada ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan perbandingan 1:0, 1:2, 1:1, 2:1, 0:1 menunjukkan hasil masing-masing sebesar 71,180 µg/ml, 77,783 µg/ml, 56,267 µg/ml, 46,292 µg/ml, 16,889 µg/ml. Kadar total fenolik yang dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau mengandung kadar total fenolik masing-masing perbandingan sebesar 43,556 mg GAE/g, 40,593 mg GAE/g, 55,196 mg GAE/g, 53,608 mg GAE/g, 64,402 mg GAE/g.
- 5.1.2 Terdapat pengaruh dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik. Kombinasi ekstrak etanol dengan perbandingan konsentrasi 2:1 menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dan kandungan total fenolik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bentuk tunggal maupun perbandingan konsentrasi lainnya. Penelitian ini juga mendapatkan hasil bahwa kelompok kontrol positif yaitu asam askorbat pada pengujian aktivitas antioksidan memiliki hasil yang sangat kuat diantara semua kelompok pengujian aktivitas antioksidan.
- 5.1.3 Terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah kadar total fenolik dengan aktivitas antioksidan (nilai IC<sub>50</sub>) dari bentuk tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau. Hal ini

dibuktikan dengan semakin tinggi nilai kadar total fenolik maka aktivitas antioksidan yang diperoleh semakin kuat (nilai  $IC_{50}$  rendah).

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka peneliti menyarankan beberapa hal, sebagai berikut:

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dengan menggunakan metode uji aktivitas antioksidan yang berbeda seperti metode ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*).
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek tahapan fraksinasi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik.
- 5.2.3 Perlu dilakukan uji kandungan total flavonoid dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau yang juga memiliki aktivitas antioksidan.



## DAFTAR PUSTAKA

- A. Hussein, R., & A. El-Anssary, A. (2019). Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. In *Herbal Medicine* (pp. 12–30). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19)
- Agustiarini, V., & Wijaya, D. P. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Penelitian Sains*, 24(1), 29. <https://doi.org/10.56064/jps.v24i1.679>
- Akter, K. N., Karmakar, P., Das, A., Anonna, S. N., Shoma, S. A., & Sattar, M. M. (2014). Evaluation of antibacterial and anthelmintic activities with total phenolic contents of Piper betel leaves. *Avicenna J Phytomed*, 4(5), 320–329.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Allo, I. S., Suryanto, E., & Koleangan, H. S. J. (2022). Aktivitas Antioksidan Fenolik Bebas dan Terikat Dari Tepung Cangkang Pala (*Myristica fragrans* Hoult). *Chemistry Priogress*, 15(2), 83–92. <https://doi.org/10.35799/cp.15.2.2022.44496>
- Amalia, B. R., Muliasari, H., & Hidayati, A. R. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 10(1), 69–81. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia of Journal Pharmacy*, 2(1), 32–38.

- Andrianto, D., Husnawati, Hermita, S., & Haryanti, S. (2020). Classification of betel leaves (Piper betle) from 15 ethnics in Eastern Indonesia based on phytochemicals fingerprint analysis. *Biodiversitas*, 21(1), 252–257. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210133>
- Angulo-López, J. E., Flores-Gallegos, A. C., Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, K. N., Martínez, G. A., & Aguilar, C. N. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) fruit and valorization of industrialization by-products. *Processes*, 9(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pr9061075>
- Aryanti, A., Febrina, L., Annisa, N., & Rusli, R. (2021). Aktivitas Antioksidan Produk Kopi dan Teh di Kota Samarinda. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(3), 488–491. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i3.510>
- Asih, D. J., Kadek Warditiani, N., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review Artikel: Aktivitas Antioksidan Ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica* / *Emblica officinalis*). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia*, 1(6), 674–687.
- Azahar, N. I., Mokhtar, N. M., & Arifin, M. A. (2020). Piper betle: a review on its bioactive compounds, pharmacological properties, and extraction process. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 991(1), 1–17. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/991/1/012044>
- Bhernama, B. G. (2015). Penetapan Kadar Flavonoid Total Jus Buah Delima (*Punica granatum* L.) yang Berpotensi sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Lantanida Journal*, 3(3), 116–126.
- Bhuvanewari, S., Sripriya, N., Deepa, S., & Udaya Prakash, N. K. (2014). Studies on Antioxidant Activities of Six Cultivars of Piper betle Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(11), 270–273.
- Biswas, P., Anand, U., Saha, S. C., Kant, N., Mishra, T., Masih, H., Bar, A., Pandey, D. K., et al. (2022). Betelvine (Piper betle L.): A comprehensive insight into its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological, biomedical and therapeutic attributes. In *Journal of Cellular and Molecular Medicine* (Vol. 26, Issue 11, pp. 3083–3119). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17323>
- Borrelli, G. M., & Trono, D. (2016). Molecular approaches to genetically improve the accumulation of health-promoting secondary metabolites in staple crops—a case study: The lipoxygenase-b1 genes and regulation of the carotenoid content in pasta products. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/ijms17071177>

- Braga, T. V., Dores, R. G. R. das, Ramos, C. S., Evangelista, F. C. G., Tinoco, L. M. da S., Varotti, F. de P., Carvalho, M. das G., & Sabino, A. de P. (2014). Antioxidant, Antibacterial and Antitumor Activity of Ethanolic Extract of the *Psidium guajava* Leaves. *American Journal of Plant Sciences*, *05*(23), 3492–3500. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.523365>
- Camarena-Tello, J. C., Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Padilla-Ramírez, J. S., Saavedra-Molina, A., Alvarez-Cortes, O., Bartolomé-Camacho, M. C., & Rodiles-López, J. O. (2018). Quantification of phenolic compounds and in vitro radical scavenging abilities with leaf extracts from two varieties of *Psidium guajava* L. *Antioxidants*, *7*(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/antiox7030034>
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2018). Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, *8*(4), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.006>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, *11*, 1–24. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A., & Hadidi, M. (2022). Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. *Antioxidants*, *11*(11), 1–33. <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>
- Dadi, M., & Yasir, M. (2022). Spectroscopy and Spectrophotometry: Principles and Applications for Colorimetric and Related Other Analysis. In A. K. Samanta (Ed.), *Colorimetry*. IntechOpen. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
- Dalimartha, S. (2000). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara.
- Darwis, A. F., & Lubis, W. H. (2016). Efektivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. Terhadap Stomatitis Atosa Rekuren (SAR) Tipe Minor. *Dentika Dental Journal*, *19*(2), 142–148.
- Diniyah, N., & Lee, S.-H. (2020). Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-kacangan: Review. *Jurnal Argoteknologi*, *14*(01), 91–102.

- Douw, D., & Wardani, T. S. (2023). Uji Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, *12*(1), 93–104.
- Dzulhijar, Situmeang, B., Ibrahim, A. M., Muamaliyah, E., Amin, F., Mahardika, M., Susparini, N. T., Bialangi, N., & Musa, W. J. A. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Sirih Kuning (*Piper betle*). *Jurnal Medika & Sains*, *2*(1), 1–8.
- Elhachem, M., Cayot, P., Abboud, M., Louka, N., Maroun, R. G., & Bou-maroun, E. (2021). The importance of developing electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers for a rapid detection of antioxidants. *Antioxidants*, *10*(3), 1–35. <https://doi.org/10.3390/antiox10030382>
- Fachriyah, E., Br Tampubolon, L. S., Ngadiwiyana, N., Ismiyanto, I., & Sarjono, P. R. (2023). Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Penelitian Saintek*, *1*(1), 41–49. <https://doi.org/10.21831/jps.v1i1.58488>
- Ferysiuk, K., & Wójciak, K. M. (2019). The Spectrophotometric Analysis of Antioxidant Properties of Selected Herbs in Vision-Protm UV-Vis. *Applied Computer Science*, *15*(4), 49–62. <https://doi.org/10.23743/acs-2019-29>
- Firdayani, F., & Agustini, T. W. (2015). Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina Platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *18*(1), 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Fitriyah, A. T., Setiawan, H. S., Halik, A., Baharuddin, Utami, R. R., Afriyanto, M. M., & Bosowa, U. (2022). Pemanfaatan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn) Sebagai Bahan Tambahan pada Permen Cokelat Tiramisu. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, *17*(1), 1–12.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. In *Materials* (Vol. 14, Issue 15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, *11*(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Gurning, K., Lumbangaol, S., F. R. Situmorang, R., & Silaban, S. (2021). Determination of phenolic contents and antioxidant activity test of ethanol extract of Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) leaves using the

- DPPH method. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 13(2), 137–142. <https://doi.org/10.24114/jpkim.v13i2.26984>
- Handayani, G. N., Umar, I., & Ismail, I. (2018). Formulasi dan Uji Efektivitas Antioksidan krim Ekstrak Etanol Daun Botto'-Botto' (Chromolaena odorata L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*, 11(2), 86. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v11i2.5944>
- Harbone, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (third). Chapman & Hall.
- Hermanto, L. O., Nibenia, J., Sharon, K., & Rosa, D. (2023). Review Artikel: Pemanfaatan Tanaman Sirih (Piper betle L) Sebagai Obat Tradisional. *PHRASE (Pharmaceutical Science) Journal*, 3(1), 33–42. <http://openjournal.wdh.ac.id/index.php/Phrase/index>
- Hidayati, M. D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. (2017). Antioxidant activity of Syzygium polynthum extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 17(1), 49–53. <https://doi.org/10.22146/ijc.23545>
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., & Asri, A. W. (2021). The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr.) leaves extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 755(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/755/1/012060>
- Hilma, Agustini, N. R., & Erjon. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Total Fenol Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea robusta L.) Hasil Maserasi dan Sokletasi dengan Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 1, 11–18.
- Hilma, Putri, N. A. Della, & Lely, N. (2021). Determination of Total Phenol and Total Flavonid Content of Longan (Dimoncarpus longan Lour) Leaf Extract. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 12(1), 80–87. [www.journal.uniga.ac.id](http://www.journal.uniga.ac.id)
- Himawan, H. C., Isa, A. F., & Wiharja, D. S. (2021). Antioxidant Activity of 70% Ethanol Extract Combination of Kemangi Leaf (Ocimum Americanum Linn) and Binahong Leaf (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Using DPPH. *Journal of Physics: Conference Series*, 1764(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012009>
- Jumrah, E., Abubakar, A. N. F., Agustina, A. S., Karneng, S., & Gusti, H. I. (2023). Formulation of Lahuna Leave (Eupatorium odoratum) and Sirih Leave Extract (Piper betle L.) as Antiseptic Liquid Soap. *Indo. J. Chem. Res.*, 10(3), 157–163. <https://doi.org/10.30598//ijcr.2023.10-jum>

- K. A. Fadhil, T. Suryati, & A. Jayanegara. (2023). Comparison Between Natural and Synthetic Antioxidants in Beef Products: A MetaAnalysis. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 11(1), 19–26. <https://doi.org/10.29244/jipthp.11.1.19-26>
- Kamoda, A. P. M. D., Nindatu, M., Kusadhiani, I., Astuty, E., Rahawarin, H., & Asmin, E. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *Saragassum* sp. dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrihidrasil (DPPH). *PAMERI: Patimura Medical Review*, 3(1), 60–72. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/index60>
- Karunanithi, S., Eswaran U, G. M., Guha, P., & Srivastav, P. P. (2023). A Review on Piper betle L.: Antioxidant, Antimicrobial, Extraction and Application in Food Product Development. *Acta Scientifci Nutritional Health*, 49–61. <https://doi.org/10.31080/asnh.2023.07.1170>
- Karwiti, W., Rezekiyah, S., Nasrazuhdy, N., Lestari, W. S., Nurhayati, N., & Asrori, A. (2023). Profil Kimia Darah sebagai Deteksi Dini Penyakit Degeneratif Pada Kelompok Usia Produktif. *Jurnal Kesehatan Komunitas*, 9(3), 494–503. <https://doi.org/10.25311/keskom.vol9.iss3.1389>
- Kemenkes. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (II). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemenkes. (1995). *Farmakope Indonesia* Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kholifah, E., Nurazizah, D., & Noviyanto, F. (2023). Antioxidant Activity and Vitamin C Concentration Analysis of Gandaria (*Bouae macrophylla* Griff) Ethanol Extract Using Spectrophotometry UV Vis. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 3(2), 54–63. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v2i1.15992>
- Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Sneha Nair, M., Maheshwari, C., Sasi, M., Prajapati, U., Hasan, M., Singh, S., Changan, S., Prajapat, R. K., Berwal, M. K., & Satankar, V. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. In *Foods* (Vol. 10, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10040752>
- Kumar, S., Sandhir, R., & Ojha, S. (2014). Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. *Biomed Central*, 7(560), 1–9. <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/560>
- Kumaradewi, D. A. P., Subaidah, W. A., Andayani, Y., & Al-Mokaram, A. (2021). Phytochemical Screening and Activity Test of Antioxidant Ethanol Extract of

- Buni Leaves (*Antidesma bunius* L. Spreng) Using DPPH Method. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 7(2), 275. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v7i2.675>
- Kuswandi, P. C., Ariyanti, N. A., Yunus, M. F., & Che Amri, C. N. A. (2023). Anatomical, morphological and physiological leaf characters of black betel (*Piper betle* L. var. *nigra*) in varying natural and man-made habitats. *Biodiversitas*, 24(6), 3236–3244. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240618>
- Leksikowati, S. S., Oktaviani, I., Ariyanti, Y., Akhmad, A. D., & Rahayu, Y. (2020). Etnobotani Tumbuhan Obat Masyarakat Lokal Suku Lampung di Kabupaten Lampung Barat. *Biologica Samudra*, 2(1), 35–53.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>
- Lisdiani, Susanto, D., & Manurung, H. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activity of methanol extract of *Dillenia excelsa* leaf. *Biodiversitas*, 23(7), 3827–3835. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230760>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lohvina, H., Sándor, M., & Wink, M. (2022). Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by hplc-esi-ms. *Diversity*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/d14010007>
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22). <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), 48–78. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Martono, Y., Yanuarsih, F. F., Aminu, N. R., & Muningar, J. (2019). Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Physics: Conference Series*, 1307(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1307/1/012014>

- Maslukhah, Y. L., Widyaningsih, T. D., Waziroh, E., Wijayanti, N., & Sriherfyna, F. H. (2016). Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) Skala Pilot Plant: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 245–252.
- Moeljanto, R. D. (2003). *Khasiat & Manfaat Daun Sirih*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Molole, G. J., Gure, A., & Abdissa, N. (2022). Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chemistry*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00841-x>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Napitupulu, D. H., Herawati, W., & Apriliana, H. (2021). Variasi Morfologi Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) di Purwokerto. *Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 3(1).
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., & Rahman, M. (2018). The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>
- Nastiti, K., Noval, & Kurniawati, D. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Infusa Daun Sirih (*Piper Betle* L), Ekstrak Etanolik Tanaman Bundung (*Actinuscirpus Grossus*) dan Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 115–122.
- Nerdy, N., & Manurung, K. (2018). Spectrophotometric method for antioxidant activity test and total phenolic determination of red dragon fruit leaves and white dragon fruit leaves. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(3), 1183–1192. <https://doi.org/10.31788/RJC.2018.1134018>
- Nofita, S. D., Ngibad, K., & Rodli, A. F. (2022). Determination of percentage yield and total phenolic content of ethanol extract from purple passion (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) fruit peel. *Jurnal Pijar Mipa*, 17(3), 309–313. <https://doi.org/10.29303/jpm.v17i3.3461>
- Nurcholis, W., Mahendra, F. R., Gultom, M. F., Khoirunnisa, S., Kurnia, M. A. C., & Harahap, H. H. (2022). Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Screening of *Orthosiphon stamineus* Leaf Extract Two Phenotypes. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(3), 121–129. <https://doi.org/10.29244/jji.v7i3.280>
- Nursanty, R., Padzil, K. N. B. M., Ramli, N. I. B., Mahyudin, N. A., Jaafar, A. H. Bin, & Rukayadi, Y. (2023). Phytochemical analysis of ethanolic *Psidium guajava* leaves extract using GC-MS and LC-MS. *Biodiversitas*, 24(5), 2723–2732. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240526>



- Palma, F., Baldelli, G., Schiavano, G. F., Amagliani, G., Aliano, M. P., & Brandi, G. (2022). Use of Eco-Friendly UV-C LEDs for Indoor Environment Sanitization: A Narrative Review. *Atmosphere*, *13*(9). <https://doi.org/10.3390/atmos13091411>
- Pant, P., Pandey, S., & Dall'Acqua, S. (2021). The Influence of Environmental Conditions on Secondary Metabolites in Medicinal Plants: A Literature Review. *Chemistry and Biodiversity*, *18*(11), 1–41. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100345>
- Parbuntari, H., Etika, B., Mulia, M., & Delvia, E. (2019). A Preliminary Screening of the Different of Secondary Metabolites Ruku-Ruku Leaves (*Ocimum tenuiflorum* Linnen) in West Sumatera. *Eksakta*, *20*(2), 17–24. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol20-iss02/193>
- Park, H., Kim, B., Kang, Y., & Kim, W. (2024). Study on Chemical Composition and Biological Activity of *Psidium guajava* Leaf Extracts. *Current Issues in Molecular Biology*, *46*(3), 2133–2143. <https://doi.org/10.3390/cimb46030137>
- Patel, N. M., Jain, D. D., Suryawanshi, H. P., & Pawar, S. P. (2019). Phytopharmacological Study of Piper Betle Leaf. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, *05*(11), 964–971. <https://doi.org/10.36348/sjmps.2019.v05i11.008>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *30*(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/9130976>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Primadhamanti, A., & Amura, L. (2020). Analisis Senyawa Fenolik pada Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.). *Jurnal Farmasi Malhayati*, *3*(1), 23–31.
- Pujiastuti, E., & Ma'rifah, S. (2022). Pengaruh Pengeringan Terhadap Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *3*(2), 318–324.

- Rahma, A. M., Zahra, A., & Supriatna, A. (2023). Inventarisasi Tumbuhan Famili Myrtaceae Di Kampung Andir, Rt.01/Rw.08, Desa Rancamulya, Sumedang. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Tanaman*, 2(1), 53–64.
- Rani, R., Arora, S., Kaur, J., & Manhas, R. K. (2018). Phenolic compounds as antioxidants and chemopreventive drugs from *Streptomyces cellulosa* strain TES17 isolated from rhizosphere of *Camellia sinensis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2154-4>
- Ridwanto, Trizaldi, A., Rani, Z., Daulay, A. S., Nasution, H. M., & Miswanda, D. (2023). Antioxidant Activity Test Of Methanol Extract Of Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lam.) Bark With Dpph (1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Method. *International Journal of Health and Pharmaceutical*, 3(2), 232–240. <https://ijhp.net>
- Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., Kumar-Passari, A., Diaz-Ruiz, G., & Rivero-Cruz, B. E. (2020). Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of mexican brown propolis. *Antioxidants*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010070>
- Riwanti, P., & Izazih, F. (2020). Artikel Penelitian Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *J-PhAM Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Roba, K. (2021). The Role of Terpene (Secondary Metabolite). *Natural Products Chemistry & Research*, 9(8), 1–11.
- Rudiana, T., Indriatmoko, D. D., & Firginia, K. (2023). Antioxidant Activity of the Combination of *Ambarella* Leaves (*Spondias dulcis* Parkinson) and Soursop Leaves (*Annona muricata* Linn) Extract. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktik*, 9(2), 2579–4558. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v9i1.5082>
- Sahumena, M. H., & Djuwarno, E. N. (2020). Identifikasi Jamu yang Beredar di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(2), 65–72. <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr,E->
- Salim, S. A., Saputri, F. A., Saptarini, N. M., & Levita, J. (2020). Review Artikel: Kelebihan dan Keterbatasan Pereaksi Folin-Ciocalteu dalam Penentuan Kadar Fenol Total Pada Tanaman. *Farmaka*, 18(1), 46–57.
- Sam, S., Malik, A., & Handayani, S. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 182–187.

- Saryanti, D., Nugraheni, D., & Astuti, N. S. (2020). Preparation and Characterization of Betel Leaves (*Piper betle* Linn) Extract Nanoparticle with Ionic Gelation Method. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 5(1). <https://doi.org/10.25026/jtpc.v5i1.224>
- Sekarsari, S., Widarta, I. W. R., & Jambe, A. A. G. N. A. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 267–277.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT/index>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., & Suleria, H. A. R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81112–81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>
- Siddeeg, A., AlKehayez, N. M., Abu-Hiamed, H. A., Al-Sanea, E. A., & AL-Farga, A. M. (2021). Mode of action and determination of antioxidant activity in the dietary sources: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1633–1644. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.064>
- Sudira, W., Made Merdana, I., & Qurani, S. N. (2019). Preliminary Phitochemical Analysis of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) as Antidiarrheal in Calves. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(2), 21–24. <https://doi.org/10.24843/atbes.v03.i02.p01>
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Kartini, Siagian, M. T., Danduru, A. P., & Avanti, C. (2020). Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. *Biodiversitas*, 21(5), 2062–2067. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210532>
- Tagrida, M., & Benjakul, S. (2021). Betel (*Piper betle* L.) leaf ethanolic extracts dechlorophyllized using different methods: antioxidant and antibacterial activities, and application for shelf-life extension of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *RSC Advances*, 11(29), 17630–17641. <https://doi.org/10.1039/d1ra02464g>

- Teoh, E. S. (2016). Secondary Metabolites of Plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 59–73). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5)
- Tesoro, C., Lelario, F., Ciriello, R., Bianco, G., Di Capua, A., & Acquavia, M. A. (2022). An Overview of Methods for L-Dopa Extraction and Analytical Determination in Plant Matrices. *Separations*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/separations9080224>
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. (2023). Perbandingan Berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (DPPH, ABTS DAN FRAP) Pada Teh Hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35–44.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Verma, G., & Mishra, M. (2018). Development and Optimization of UV-Vis Spectroscopy-A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(11), 1170–1180. <https://doi.org/10.20959/wjpr201811-12333>
- Wahyuni, S., Afidah, M., & Suryanti. (2022). Studi morfologi Organ Vegetatif dan Generatif Varietas Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Bio-Lectura*, 9(1), 103–113.
- Wilorianza, R., Emelda, E., Munir, M. A., & Fatmawati, A. (2023). The Effect of Solvent Concentration Against Specific and Non Specific Parameters of Standardization: Ethanolic Extract of Papaya Seed (*Carica papaya* Linn.). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 7(2), 105–113. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v7i2.577>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1). <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>