

**EVALUASI *IN VITRO* KANDUNGAN FENOLIK, FLAVONOID, DAN
TANIN TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI
EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*)**

(Skripsi)

Oleh

Aldo Setiawan Lukas

2218031037



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

**EVALUASI *IN VITRO* KANDUNGAN FENOLIK, FLAVONOID, DAN
TANIN TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI
EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*)**

Oleh

Aldo Setiawan Lukas

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

Jurusan Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

Judul Skripsi

: **EVALUASI IN VITRO
KANDUNGAN FENOLIK,
FLAVONOID, DAN TANIN
TOTAL SERTA AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN KOMBINASI
EKSTRAK DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia*) DAN DAUN
SALAM (*Syzygium polyanthum*)**

Nama Mahasiswa

: **Aldo Setiawan Lukas**

No. Pokok Mahasiswa

: 2218031037

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran



1. Komisi Pembimbing

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ihsanti', with a small '12' written above it.

apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S., Farm.
NIP 19940518 202203 2 019

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Atri', with a small '12' written above it.

Atri Sri Ulandari, M.Farm.
NIP 19940702 202506 2 008

2. Dekan Fakultas Kedokteran

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Evi', over a green circular stamp of Universitas Lampung.

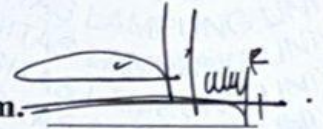
Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP 19760120 200312 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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



Sekretaris

: Atri Sri Ulandari, M.Farm.

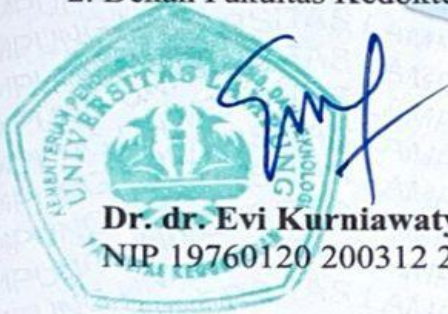


Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

NIP 19760120 200312 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 22 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aldo Setiawan Lukas

NPM : 221803137

Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : **EVALUASI IN VITRO KANDUNGAN FENOLIK, FLAVONOID, DAN TANIN TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)**

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarisme dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 22 Januari 2026

Mahasiswa,



Aldo Setiawan Lukas

RIWAYAT HIDUP

Aldo Setiawan Lukas lahir di Seputih Banyak pada tanggal 30 November 2002. Penulis merupakan anak tunggal dari pasangan Bapak Lukman Santoso dan Ibu Nila Ernina Sari.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) di TK Aisyah pada tahun 2007 dan melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Tanjung Harapan pada tahun 2009 hingga 2015. Lalu, penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 1 Seputih Banyak pada tahun 2015 hingga 2018. Pada tahun 2018 penulis kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Seputih Banyak dan lulus pada tahun 2021.

Penulis diterima menjadi mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SBMPTN) pada tahun 2022. Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan. Penulis juga aktif dalam aktivitas akademik sebagai asisten praktikum. Menjadi suatu kebanggaan bagi penulis bisa berkuliah di Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

– Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur kepada kedua orang tua tercinta. Kepada mama dan papa terimakasih atas doa dan dukungan penuhnya setiap saat –

"Dan Dia mengajarkan kepada manusia apa yang tidak diketahuinya."

(QS. Al-'Alaq [96]: 5)

SANWACANA

Alhamdulillahirrabilalamin puji syukur senantiasa Penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Evaluasi In Vitro Kandungan Fenolik, Flavonoid, dan Tanin Total serta Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)” disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, SpM., selaku Ketua Jurusan Farmasi 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 ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;
5. Atri Sri Ulandari, M. Farm., selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis sejak penulisan proposal hingga penulisan skripsi ini selesai;

6. apt. Muhammad Iqbal, S. Farm., M. Sc., selaku pembahas skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan masukan, saran, serta kritik mengenai skripsi ini;
7. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S. Ked., M. Farm, selaku Pembimbing Akademik semester 1-8 yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran kepada penulis selama masa pendidikan di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
8. Mba Afrita dan Mba Amel, selaku laboran Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
11. Papa (Lukman Santoso) dan Mama (Nila Ernina Sari) kedua orang tua penulis yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, dan nasihat yang sangat berarti bagi penulis. Terima kasih selalu menyertai dan menyediakan apa yang dibutuhkan oleh penulis hingga saat ini;
12. Papa (Hendra Saputra) orang tua angkat yang selalu ada di samping penulis. Terima kasih selalu mau membantu dan memberikan semangat kepada penulis;
13. Keluarga besar yang selalu mendoakan dan mendukung penulis selama penulisan skripsi ini;
14. Teman-teman partner dalam penelitian, yaitu Athaya Aulia Rannisa dan Putik Titian Citra Hening, Terimakasih dalam kerja samanya dalam proses penelitian ini sampai selesai
15. Teman-teman Ahoy, yaitu Yovit, Eca, Vira, Isna, Syaza, Abim yang menjadi sahabat sekaligus keluarga selama penulis merantau di Bandar Lampung. Terima kasih telah memberikan banyak bantuan, motivasi, dan semangat selama menjalani perkuliahan hingga melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini;

16. Teman penulis yang penulis anggap keluarga sendiri, yaitu M. Rosari Resalia yang senantiasa mendukung, membantu, menguatkan, dan memberikan semangat kepada penulis selama ini, terutama selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini;
17. Teman penulis yang selalu membantu dan menyemangati penulis selama berkuliah di Farmasi ini, yaitu Zahra Fitria, Terimakasih atas dukungannya selama ini hingga penulis bisa sampai tahap akhir penulisan skripsi ini
18. Teman-teman penelitian di laboratorium, Nurrahmi, Gina, Ici, Dayu, Ayudya, Loisa, Triana, Ardi, Kak Fred, yang selalu memberikan bantuan dan dukungannya kepada penulis selama proses penelitian di laboratorium;
19. Teman-teman se DPA penulis yaitu Alya, Hecit, dan Selga. Terimakasih selalu ada di samping penulis dalam memberikan dukungannya selama berproses berkuliah
20. Teman-teman Radin Squad, Nadin, Dani, Ibram, dan Ringgit yang memberikan banyak pengalaman berharga bagi penulis serta selalu mendukung dan memberikan semangat selama proses penulisan skripsi;
21. Keluarga Tropomyosin Angkatan 2022 Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas semangat dan kebersamaannya selama perkuliahan.
22. Teman-teman KKN Desa Sangun Ratu yang memberikan banyak pelajaran berharga bagi penulis selama 40 hari bersama-sama dan selalu mendukung penulis dalam penulisan skripsi ini;
23. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung serta membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi kebermanfaatan bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 22 Januari 2026

Penulis

Aldo Setiawan Lukas

ABSTRACT

IN VITRO EVALUATION OF TOTAL PHENOLIC, FLAVONOID, AND TANNIN CONTENTS AND ANTIOXIDANT OF COMBINED EXTRACTS OF BINAHONG LEAVES (*Anredera cordifolia*) AND BAY LEAVES (*Syzigium polyanthum*)

By

Aldo Setiawan Lukas

Background: Binahong leaves and bay leaves are known to contain phenolic compounds, flavonoids, and tannins, which have the potential to be developed as natural antioxidant sources. This study aimed to determine the total phenolic, flavonoid, and tannin contents, as well as the antioxidant activity of combined 70% ethanol and ethyl acetate extracts of binahong and bay leaves.

Methods: Combined extracts of binahong and bay leaves were prepared at ratios of 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, and 0:2 %w/w, with a total concentrated extract weight of 100 mg. Total phenolic content (mg GAE/g extract) was determined using the Folin–Ciocalteu method, total flavonoid content (mg QE/g extract) was analyzed using the aluminum chloride colorimetric method, and total tannin content (mg GAE/g extract) was determined using the gelatin precipitation method. Antioxidant activity ($\mu\text{g/mL}$) was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Data analysis was performed using one-way ANOVA and Spearman correlation tests with a significance level of 0.05.

Results: The highest total phenolic content in both the 70% ethanol and ethyl acetate extracts was obtained in the 0:2 combination. The highest total flavonoid content was observed in the 1:1 and 0:2 combinations, while the highest total tannin content in both extracts was found in the 1:2 combination. The strongest antioxidant activity in the 70% ethanol and ethyl acetate extracts was observed in the 0:2 and 1:2 combinations. All test results showed significant differences among extract combinations. A negative correlation was observed between total phenolic, flavonoid, and tannin contents and antioxidant activity, except for the ethyl acetate extract in the flavonoid assay, which showed a positive correlation.

Conclusions: : The combination of 70% ethanol and ethyl acetate extracts of binahong and bay leaves exhibited high total phenolic, flavonoid, and tannin

contents, and showed a negative correlation with antioxidant activity, except for the ethyl acetate extract in the flavonoid assay.

Keywords: binahong leaves, bay leaves, extract, total phenolics, total flavonoids, total tannins, antioxidant

ABSTRAK

EVALUASI *IN VITRO* KANDUNGAN FENOLIK, FLAVONOID, DAN TANIN TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)

Oleh

Aldo Setiawan Lukas

Latar Belakang: Daun binahong dan daun salam diketahui mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar total fenolik, flavonoid, tanin, serta aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong dan daun salam.

Metode: Ekstrak kombinasi daun binahong dan daun salam dibuat dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 %b/b dengan total berat ekstrak kental 100 mg. Penentuan kadar fenolik total (mg GAE/g ekstrak) dilakukan menggunakan metode *Folin–Ciocalteu*, kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak) dengan metode kolorimetri aluminium klorida, dan kadar tanin total (mg GAE/g ekstrak) menggunakan metode presipitasi gelatin. Aktivitas antioksidan ($\mu\text{g/mL}$) menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Analisis data dilakukan menggunakan uji statistik *one-way ANOVA* dan uji korelasi *Spearman* dengan nilai signifikansi 0,05.

Hasil: Kadar fenolik total tertinggi pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat diperoleh pada kombinasi 0:2. Kadar flavonoid total tertinggi pada kombinasi 1:1 dan 0:2, sedangkan kadar tanin total tertinggi pada kedua ekstrak dengan kombinasi 1:2. Aktivitas antioksidan paling kuat pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat pada kombinasi 0:2 dan 1:2. Seluruh hasil pengujian menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kombinasi ekstrak. Terdapat korelasi negatif antara kadar total fenolik, flavonoid, dan tanin terhadap aktivitas antioksidan, kecuali pada ekstrak etil asetat uji flavonoid yang menunjukkan korelasi positif.

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil daun binahong dan daun salam memiliki kadar total fenolik, flavonoid, dan tanin yang termasuk rentang tinggi, serta terdapat korelasi negatif dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan

kecuali pada ekstrak etil asetat dari uji kadar flavonoid.

Kata Kunci: daun binahong, daun salam, ekstrak, fenolik total, flavonoid total, tanin total, antioksidan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat.....	4
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi.....	4
1.5 Batasan Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi Binahong.....	6
2.1.2 Morfologi Binahong	7
2.1.3 Khasiat Binahong.....	8
2.2 Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	9
2.2.1 Klasifikasi Salam	9
2.2.2 Morfologi Salam	10
2.2.3 Khasiat Salam	11
2.3 Ekstraksi	12
2.3.1 Definisi Ekstraksi.....	12
2.3.2 Metode UAE (<i>Ultrasound-Assisted-Extraction</i>)	13
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	14
2.5 Kadar Fenolik Total	20
2.5.1 Metode <i>Folin-Ciocalteu</i>	21
2.6 Kadar Flavonoid Total	22
2.6.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida.....	22
2.7 Kadar Tanin Total.....	23
2.7.1 Metode Prepitasi Gelatin	24
2.8 Radikal Bebas dan Stres Oksidatif.....	25
2.9 Antioksidan	26
2.9.1 Definisi Antioksidan	26
2.9.2 Metode DPPH.....	29

2.10 Spektrofotometri UV-Vis	30
2.11 Kerangka Teori	32
2.12 Hipotesis Penelitian	33

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	34
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	34
3.2.1 Tempat Penelitian	34
3.2.2 Waktu Penelitian	34
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	35
3.3.1 Alat Penelitian	35
3.3.2 Bahan Penelitian	35
3.4 Variabel Penelitian	36
3.4.1 Variabel Bebas (<i>independent variable</i>)	36
3.4.2 Variabel Terikat (<i>dependent variable</i>)	36
3.4.3 Variabel Kontrol	36
3.5 Definisi Operasional Penelitian	36
3.6 Prosedur Penelitian	40
3.6.1 Pengambilan Sampel	40
3.6.2 Uji Determinasi Tanaman	40
3.6.3 Pembuatan Simplisia	41
3.6.4 Pembuatan Ekstrak	41
3.6.5 Uji Skrinning Fitokimia	42
3.6.6 Pembuatan Larutan Uji	44
3.6.7 Uji Kadar Fenolik Total	45
3.6.8 Uji Kadar Flavonoid Total	47
3.6.9 Uji Kadar Tanin Total	48
3.6.10 Uji Aktivitas Antioksidan	51
3.7 Analisis Data	55
3.8 Etik Penelitian	56
3.9 Alur Penelitian	57

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil	58
4.1.1 Determinasi Tanaman	58
4.1.2 Pembuatan Simplisia Serbuk	58
4.1.3 Ekstraksi dan Perhitungan Rendemen Ekstrak	59
4.1.4 Hasil Skrinning Fitokimia	60
4.1.5 Hasil Uji Kadar Fenolik Total	62
4.1.6 Hasil Uji Kadar Flavonoid Total	64
4.1.7 Hasil Uji Kadar Tanin Total	66
4.1.8 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	68
4.1.9 Analisis Data Hubungan Kadar Fenolik Total	71
4.1.10 Analisis Data Hubungan Kadar Flavonoid Total	72
4.1.11 Analisis Data Hubungan Kadar Tanin Total	74
4.2 Pembahasan	76
4.2.1 Ekstraksi	76
4.2.2 Skrinning Fitokimia	77

4.2.3 Uji Kadar Fenolik Total	79
4.2.4 Uji Kadar Flavonoid Total	81
4.2.5 Uji Kadar Tanin Total	83
4.2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	85
4.2.7 Analisis Data Hubungan Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid	90
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	92
5.2 Saran	93
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN	110

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Definisi operasional	36
3.2 Perbandingan ekstrak daun binahong dan daun salam.....	44
3.3 Kelompok interpretasi nilai IC_{50}	55
3.4 Kelompok nilai koefisien korelasi.....	56
4.1 Hasil bobot simplisia basah dan kering daun binahong dan daun salam.....	58
4.2 Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun salam	59
4.3 Hasil rendemen ekstrak etil asetat daun binahong dan daun salam	59
4.4 Hasil skrinning fitokimia daun binahong.....	60
4.5 Hasil skrinning fitokimia daun salam	61
4.6 Hasil penetapan kadar fenolik total etanol 70%.....	62
4.7 Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak etil asetat	63
4.8 Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70%	64
4.9 Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak etil asetat	65
4.10 Hasil penetapan kadar tanin total ekstrak etanol 70%	66
4.11 Hasil penetapan kadar tanin total ekstrak etil asetat	67
4.12 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70%	69
4.13 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat	70
4.14 Hasil uji kolerasi kadar fenolik total ekstrak etanol 70% pada nilai IC_{50}	71
4.15 Hasil uji kolerasi kadar fenolik total ekstrak etil asetat pada nilai IC_{50}	72
4.16 Hasil uji kolerasi kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% pada nilai IC_{50}	73
4.17 Hasil uji kolerasi kadar flavonoid total ekstrak etil asetat pada nilai IC_{50}	73
4.18 Hasil uji kolerasi kadar tanin total ekstrak etanol 70% pada nilai IC_{50}	74
4.17 Hasil uji kolerasi kadar tanin total ekstrak etil asetat pada nilai IC_{50}	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	6
2.2 Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	10
2.3 Beberapa jalur utama biosintesis metabolit sekunder	15
2.4 Gambar contoh struktur inti dari alkaloid	16
2.5 Gambar struktur fenolik	17
2.6 Struktur flavonoid	17
2.7 Struktur saponin	18
2.8 Struktur tanin.....	19
2.9 Struktur terpenoid dan turunannya.....	20
2.10 prinsip pengukuran dalam spektrofotometer.....	31
2.11 Kerangka teori.....	32
3.1 Alur Penelitian	57
4.1 Struktur flavonoid yang berkontribusi sebagai antioksidan.....	87
4.2 Struktur fenolik yang berkontribusi sebagai antioksidan.....	87
4.3 Struktur asam galat yang berkontribusi sebagai antioksidan	88

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persetujuan Etik	111
2. Hasil Determinasi Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	112
3. Hasil Determinasi Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	114
4. <i>Certufucate of Analysis</i> DPPH	116
5. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Askorbat	117
6. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Trikloroasetat	118
7. <i>Certificate of Analysis</i> Natrium Karbonat.....	119
8. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Galat	120
9. <i>Certificate of Analysis</i> Alumunium Klorida	121
10. <i>Certificate of Analysis Follin-Ciocalteu</i>	122
11. <i>Certificate of Analysis</i> Kuersetin	123
12. Diagram Penelitian.....	124
13. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel	132
14. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan.....	136
15. Dokumentasi	166
16. Hasil Analisis Data Statistika Menggunakan SPSS	176

DAFTAR SINGKATAN

1. AAE	= <i>Absorbic Acid Equivalent</i>
2. ABTS	= <i>2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
3. AlCl ₃	= Alumunium Klorida
4. BHA	= Butil Hidroksil Anisol
5. BHT	= Butil Hidroksil Toluen
6. CAT	= Katalase
7. cm	= Centimeter
8. CUPRAC	= <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>
9. DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
10. DNPH	= <i>2,4-dinitrophenylhydrazine</i>
11. DPPH	= <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
12. FRAP	= <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
13. g	= gram
14. GAE	= <i>Gallic Acid Equivalent</i>
15. GPx	= Glutation peroksidase
16. HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
17. IC ₅₀	= <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
18. kHz	= Kilohertz
19. LC-MS	= <i>Liquid Chromatography–Mass Spectrometry</i>
20. mg	= Miligram
21. mm	= Milimeter
22. OH	= Hidroksil
23. ORAC	= <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
24. Ppm	= <i>Parts Per Million</i>
25. Riskesdas	= Riset Kesehatan Daerah
26. ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
27. SOD	= Superoksidase Dismutase

28. TBHQ = *tert*-Butylhydroquinone
29. UAE = *Ultrasound-Assisted Extraction*
30. µg = Mikrogram

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif adalah penyakit tidak menular yang muncul akibat adanya penurunan fungsi sel (Hafsah *et al.*, 2022). Golongan lanjut usia lebih sering mengalami penyakit degeneratif, tetapi tidak jarang terjadi juga pada golongan muda (Setyawati *et al.*, 2024). Terjadinya penurunan tersebut dikarenakan adanya proses penuaan dan pola hidup yang tidak sehat (Karwiti *et al.*, 2023). Menurut data Riskesdas pada tahun 2018 menyebutkan bahwa prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia mencapai 65,7% (Kemenkes, 2018). Penyakit degeneratif yang biasanya ditemukan pada masyarakat adalah asam urat, diabetes melitus, hipertensi, dan kolesterol yang tinggi (Oktavia *et al.*, 2025). Salah satu faktor yang berperan dalam perkembangan penyakit degeneratif adalah stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh (Arief *et al.*, 2020). Oleh karena itu, antioksidan memiliki peran penting dalam menekan stres oksidatif dan berpotensi digunakan sebagai pendekatan terapeutik dalam pencegahan dan pengelolaan penyakit degeneratif.

Senyawa radikal bebas dapat menyebabkan munculnya penyakit degeneratif (Iranawati *et al.*, 2024). Senyawa radikal dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat menyebabkan rusaknya sel, DNA, protein dan lemak dalam tubuh. Rusaknya makromolekul dalam tubuh dapat menyebabkan timbulnya penyakit kanker dan gangguan neurodegeneratif (Farmasi & Farmakoinformatika, 2022). Dalam menangani hal ini tubuh memerlukan senyawa antioksidan dalam membantu senyawa endogen dalam

menghambat, mencegah, dan memperlambat reaksi oksidasi (Rustaman *et al.*, 2023). Senyawa antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok alami dan sintesis. Saat ini, senyawa antioksidan alami diketahui lebih aman dan murah dibandingkan antioksidan sintesis (Smajić, Cvrk, Kusur, Junuzović & Brčina 2023).

Tanaman obat tradisional yang diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*). Penelitian uji aktivitas antioksidan (DPPH) yang dilakukan oleh Tandi, (2023), dari uji tersebut diketahui ekstrak daun binahong dengan pelarut etanol 96% memiliki nilai IC_{50} sebesar 61,99 ppm (kuat). Penelitian lain, diketahui kombinasi antara ekstrak daun binahong dan daun kemangi dengan konsentrasi 50 mg : 100 mg (daun binahong : daun kemangi) dengan pelarut etanol memiliki nilai IC_{50} yang sangat kuat yaitu 24,33 ppm (Himawan *et al.*, 2021). Ekstrak daun salam tunggal dengan pelarut etanol 96% diketahui memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 5,603 ppm (Setiawansyah & Pandapotan, 2025). Penelitian lain menyebutkan kombinasi ekstrak daun salam dengan daun kelor dengan pelarut etanol 96%% memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak daun salam tunggal dengan nilai IC_{50} 28,5 ppm yang dikategorikan sangat kuat (Rudiana & Indriatmoko, 2020). Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan kemampuan antioksidan yang semakin tinggi dalam menangkap radikal bebas, sehingga berpotensi berperan dalam pencegahan penyakit degeneratif yang berkaitan dengan stres oksidatif (Putri, 2020). Aktivitas antioksidan tersebut umumnya berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, dan tanin yang diketahui mampu menetralkan radikal bebas serta melindungi sel dari kerusakan oksidatif.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak tunggal maupun kombinasi dari daun binahong dan daun salam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Namun, hingga kini belum ada penelitian yang

secara khusus membahas kandungan total fenolik, total flavonoid, total tanin, serta aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar total fenolik, total flavonoid, total tanin dan aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong serta daun salam dengan variasi perbandingan konsentrasi 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, 0:2 %b/b.

1.2 Rumusan Masalah

Mengacu pada latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa jumlah kadar fenolik total, flavonoid total, tanin total pada kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan pelarut etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*)?
2. Bagaimana profil aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui nilai IC_{50} pada kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan pelarut etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*)?
3. Apakah terdapat keterkaitan antara peningkatan kadar fenolik total flavonoid total, dan tanin total terhadap aktivitas antioksidan pada kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan pelarut etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengacu pada rumusan masalah yang telah dijelaskan, tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis kadar fenolik total, flavonoid total, tanin total dari kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*)

2. Mengidentifikasi aktivitas antioksidan (IC_{50}) kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan pelarut etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang memiliki potensi antioksidan terbaik
3. Mengkaji hubungan antara kadar fenolik total, flavonoid total, tanin total dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}) terhadap kombinasi ekstrak pelarut etanol 70% dan pelarut etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Manfaat yang didapatkan melalui penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan bagi peneliti dalam pengembangan obat-obatan berbasis bahan alam dengan mengacu pada data mengenai kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total, dan aktivitas antioksidan dari kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Manfaat yang didapatkan melalui penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi sekaligus edukasi bagi masyarakat mengenai pemanfaatan daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang berpotensi dijadikan antioksidan alami yang bermanfaat untuk kesehatan.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

Manfaat yang didapatkan melalui penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam memperkuat peran institusi, khususnya dalam upaya pengembangan potensi pemanfaatan daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dijadikan antioksidan alami.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini ditetapkan agar ruang lingkup penelitian tidak melebar sehingga pelaksanaan penelitian dapat dilakukan dengan fokus dan hasilnya sesuai dengan yang telah dirumuskan. Batasan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengujian penetapan kadar fenolik total dalam penelitian ini hanya menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*.
2. Pengujian penetapan kadar flavonoid total dalam penelitian ini hanya menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida.
3. Pengujian penetapan tanin total dalam penelitian ini hanya menggunakan metode prepitasi gelatin.
4. Pengujian aktivitas senyawa antioksidan dalam penelitian ini hanya menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-picrylhydrazyl*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

2.1.1 Klasifikasi Binahong

Berikut adalah klasifikasi tanaman binahong menurut *Plants of the World Online* (2025), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Filum	: Streptophyta
Kelas	: Equisetopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis.



Gambar 2.1 Daun binahong (*Anredera cordifolia*) (Puspa *et al.*, 2022)

2.1.2 Morfologi Binahong

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) memiliki morfologi khas berupa batang lunak, silindris, saling melilit dengan panjang dapat mencapai kurang lebih 5 meter. Akar tanaman ini berbentuk rimpang berdaging lunak, sedangkan daunnya berbentuk daun tunggal berbentuk jantung dengan warna hijau dengan ukuran panjang 5-10 cm dan lebar 3-7 cm, berujung runcing, panjang berlekuk, tepi rata, serta permukaan licin. Bunga binahong berbentuk tandan bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, dengan mahkota berwarna krem keputih-putihan dan ukuran helai dari 0,5-1 cm. Binahong berkembang biak berlangsung secara generatif melalui biji, namun lebih sering secara vegetatif melalui akar rimpang (Sulaiman *et al.*, 2022).

Habitat tanaman binahong berada pada tempat teduh dan agak lembap dengan intensitas cahaya matahari yang tidak terlalu tinggi. Dalam kondisi lingkungan yang baik, tanaman ini dapat tumbuh hingga mencapai 7 meter. Tanaman *Anredera cordifolia* merupakan salah satu tanaman obat potensial yang penyebarannya meliputi wilayah Cina hingga Asia Tenggara, sedangkan Indonesia dikenal dengan sebutan binahong (Sulaiman *et al.*, 2022).

Tanaman binahong memiliki manfaat yang besar dalam pengobatan tradisional, karena dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Seluruh bagian tanaman binahong, baik akar, batang, daun, bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun, dapat dimanfaatkan sebagai obat alami. Selain itu, binahong mengandung berbagai senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Abidin *et al.*, 2022).

Daun binahong merupakan daun tunggal dengan tangkai sangat pendek. Pertulangan daun menyirip dengan susunan berselang-seling.

Bentuk daunnya menyerupai jantung (*cordata*) dengan warna hijau muda, panjang sekitar 5-10 cm, dan lebar 3-7 cm. Helaian daun tipis dan lemas, dengan ujung meruncing serta pangkal yang berlekuk. Tepi daun rata atau kadang bergelombang, sedangkan permukaan daun halus dan licin (Abidin *et al.*, 2022).

2.1.3 Khasiat Binahong

Daun binahong dikenal memiliki manfaat dalam mempercepat proses penyembuhan luka, termasuk luka bakar, berkat kandungan flavonoid, saponin, dan tanin di dalamnya. Saponin berfungsi sebagai antiseptik yang mampu mencegah pertumbuhan bakteri penyebab infeksi, sehingga luka tidak mudah memburuk. Selain itu, saponin juga berperan dalam merangsang pembentukan kolagen yang penting untuk perbaikan jaringan. Flavonoid di sisi lain bekerja mengurangi peradangan pada area luka, sedangkan tanin membantu mengecilkan pori-pori, menghentikan keluarnya nanah, serta mengurangi pendarahan ringan sehingga permukaan lebih cepat menutup (Abidin *et al.*, 2022).

Secara tradisional, rebusan daun binahong telah lama dimanfaatkan masyarakat sebagai obat diabetes. Tidak hanya itu, ekstrak daun binahong juga menunjukkan efek menurunkan denyut jantung dan meningkatkan produksi urine, mirip dengan mekanisme kerja obat antihipertensi golongan beta-blocker dan diuretik. Dengan demikian, tanaman ini diperkirakan memiliki potensi dalam membantu penderita hipertensi. Selain menurunkan tekanan darah, ekstrak binahong juga terbukti dapat mengurangi kadar kolesterol jahat serta lemak dalam darah. Kombinasi efek antihipertensi dan hipokolesterolemik ini memberi perlindungan terhadap penyakit kardiovaskular, termasuk gagal jantung maupun serangan jantung. Tak hanya itu, penelitian juga mendukung bahwa ekstrak daun binahong mampu mendukung

fungsi ginjal, khususnya pada penderita gagal ginjal kronis (Sulaiman *et al.*, 2022).

Bagian tanaman binahong yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daunnya. Secara turun-temurun, daun binahong digunakan untuk membantu mempercepat pemulihan setelah tindakan operasi, proses persalinan, maupun khitan. Selain itu, daun ini juga sering dipakai untuk mengatasi luka dalam, peradangan pada usus, serta menunjang penyembuhan berbagai penyakit berat. Hasil penelitian modern mendukung penggunaan tersebut, dengan menunjukkan bahwa binahong memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan, antibiotik, antivirus, dan antiinflamasi (Purwaningsih *et al.*, 2025).

Tanaman binahong diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Menurut penelitian dari Tandiet *et al.*, (2023), daun binahong terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian tersebut menunjukkan ekstrak daun binahong dengan pelarut etanol telah memperoleh IC₅₀ sebesar 61.9 ppm (kuat), yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan tersebut dikategorikan kuat (Tandiet *et al.*, 2023). Penelitian lain menunjukkan hasil yaitu 24.3 ppm dari kombinasi antara daun binahong dan daun kemangi dengan konsentrasi 50 mg : 100 mg (sangat kuat) (Himawan *et al.*, 2021).

2.2 Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

2.2.1 Klasifikasi Salam

Berikut adalah klasifikasi tanaman salam menurut *Plants of the World Online* (2025), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Filum	: Tracheobionta
Kelas	: Equisetopsida
Subkelas	: Magnoliidae

Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.



Gambar 2.2 Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) (Fadilla, *et al.*, 2020)

2.2.2 Morfologi Salam

Pohon salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan anggota famili Myrtaceae. Tanaman ini banyak dijumpai di kawasan Asia Tenggara, termasuk Myanmar, Thailand, Malaysia, Singapura, hingga Indonesia. Batang pohon salam memiliki ciri khas berupa kulit yang kasar, retak, dan mudah mengelupas. Warna kulitnya abu-abu gelap, namun pada bagian yang lebih tinggi tampak lebih terang dan halus. Kayunya dikenal tahan terhadap air. Daun salam memiliki aroma khas menyerupai terpentin, dengan bentuk lonjong, permukaan hijau tua yang mengkilap, serta ujung yang dapat tumpul maupun runcing (Wahyudi *et al.*, 2024).

Tanaman salam umumnya tumbuh pada daerah dengan ketinggian sekitar 5 hingga 1000 meter di atas permukaan laut. Bunga salam sebagian besar termasuk bunga banci yang memiliki kelopak dan mahkota, dengan jumlah benang sari yang banyak, dan pada beberapa kasus kelopaknya tersusun berhadapan dengan daun mahkota. Daunnya berbentuk lonjong hingga elips atau menyerupai telur terbalik, dengan pangkal yang meruncing dan ujung yang tumpul. Ukuran panjang daun berkisar antara 50–150 mm, sedangkan lebarnya sekitar 35–65 mm, serta memiliki 6–10 urat daun lateral.

Tangkai daun salam biasanya memiliki panjang antara 5–12 mm (Husada, 2024).

2.2.3 Khasiat Salam

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) sejak lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional masyarakat Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Selain digunakan sebagai bumbu penyedap makanan karena aromanya yang khas, daun ini juga dikenal memiliki berbagai khasiat farmakologis. Secara etnobotani, daun salam kerap digunakan sebagai obat herbal untuk menurunkan kadar kolesterol, mengontrol gula darah pada penderita diabetes, serta membantu menurunkan tekanan darah tinggi (hipertensi) (Hidayati *et al.*, 2020).

Kandungan metabolit sekunder dalam daun salam, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid, berperan penting dalam aktivitas biologisnya. Flavonoid dan tanin berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas, sementara saponin berpotensi sebagai agen hipokolesterolemik, dan alkaloid diketahui memiliki efek antihipertensi. Selain itu, minyak atsiri pada daun salam juga memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur, sehingga bermanfaat untuk menjaga kesehatan tubuh secara menyeluruh (Wahyudi *et al.*, 2024).

Berbagai penelitian modern mendukung penggunaan tradisional daun salam sebagai tanaman obat. Ekstrak etanol daun salam terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, serta berpotensi dikembangkan sebagai bahan baku obat herbal untuk pencegahan penyakit degeneratif, seperti diabetes melitus, hipertensi, dan penyakit kardiovaskular (Sari *et al.*, 2021).

Tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Setiawansyah & Pandapotan (2025), daun salam terbukti memiliki

aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun salam tunggal dengan pelarut etanol 96% memperoleh nilai IC_{50} sebesar 5.6 ppm, yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan tersebut dikategorikan sangat kuat (Setiawansyah & Pandapotan 2025). Penelitian lain melaporkan bahwa kombinasi ekstrak daun salam dan daun kelor dengan pelarut etanol 96% menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun salam tunggal, dengan nilai IC_{50} sebesar 28.5 ppm yang juga termasuk dalam kategori sangat kuat (Rudiana & Danang Indriatmoko, 2020).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses kerja dengan cara memisahkan senyawa aktif dari bahan simplisia dengan memakai pelarut cair yang sesuai. Secara umum, metode ekstraksi dapat dibedakan berdasarkan penggunaan suhunya menjadi dua kelompok, yaitu metode dingin dan metode panas. Metode dingin mencakup proses perkolasi dan maserasi, sedangkan metode panas mencakup teknik dekokta, soxhletasi, infusa, reflux, digesti dan destilasi. Selain itu, seiring dengan perkembangan teknologi, telah dikembangkan juga metode ekstraksi modern seperti ekstraksi menggunakan sentrifugasi, fluida superkritis, dan gelombang ultrasonik (*ultrasound-assisted extraction*) (Triyanti *et al.*, 2025).

Secara umum, proses ekstraksi akan berjalan lebih efisien jika dibidang kontak antara serbuk simplisia dan pelarut semakin besar. Dengan demikian, semakin halus ukuran partikel simplisia, maka hasil ekstraksi yang diperoleh juga akan semakin maksimal. Pemilihan metode ekstraksi sangat bergantung pada karakteristik senyawa yang diekstraksi, mencakup jenis, sifat fisik, serta sifat kimianya. Lalu, pemilihan pelarut juga disesuaikan dengan sifat

kepolaran senyawa yang diekstraksi, yang bisa bervariasi dari tidak polar sampai sangat polar. Oleh karena itu, dalam beberapa kasus, proses ekstraksi dilakukan secara bertahap berdasarkan perbedaan polaritas tersebut (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Berdasarkan ada atau tidaknya dalam menggunakan panas, metode ekstraksi umumnya dibagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan ekstraksi dengan cara panas. Ekstraksi dengan cara dingin tidak melibatkan pemanasan agar senyawa yang diinginkan tetap stabil dan tidak mengalami kerusakan. Sebaliknya, ekstraksi dengan cara panas menggunakan pemanasan untuk mempercepat proses pelepasan senyawa dari simplisia (Triyanti *et al.*, 2025).

2.3.2 Metode UAE (*Ultrasound-Assisted-Extraction*)

Metode *ultrasound-assisted-extraction* (UAE) merupakan metode yang memanfaatkan gelombang suara berfrekuensi 20–2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga isi sel dapat keluar. Hasil ekstraksi sangat dipengaruhi oleh frekuensi getaran yang digunakan. Faktor inilah yang membuat ekstraksi ultrasonik berlangsung lebih cepat dibandingkan metode konvensional. Saat gelombang ultrasonik merambat, medium yang dilaluinya akan mengalami getaran akibat energi gelombang tersebut. Getaran inilah yang memberikan efek pengadukan intensif, sehingga proses pelepasan senyawa dari bahan menjadi lebih efektif (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut dengan perbandingan tertentu, kemudian diekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik pada suhu terkontrol. Gelombang ultrasonik menghasilkan kavitasasi yang menyebabkan dinding sel pecah sehingga senyawa bioaktif lebih mudah keluar dan larut ke dalam pelarut. Proses UAE umumnya

dilakukan selama 30 menit dengan pengadukan secara berkala untuk menjaga homogenitas larutan serta memastikan kontak optimal antara pelarut dan serbuk simplisia (Lemmadi *et al.*, 2025 ; Hao *et al.*, 2023) Setelah proses *sonikasi* selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu rendah sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan dapat dikeringkan lebih lanjut dan disimpan pada suhu dingin sebelum digunakan untuk analisis. Rendemen ekstrak ditentukan dengan menghitung perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat serbuk simplisia kering yang digunakan, di mana nilai rendemen mencerminkan banyaknya senyawa bioaktif yang berhasil ditarik melalui metode UAE (Shen *et al.*, 2023).

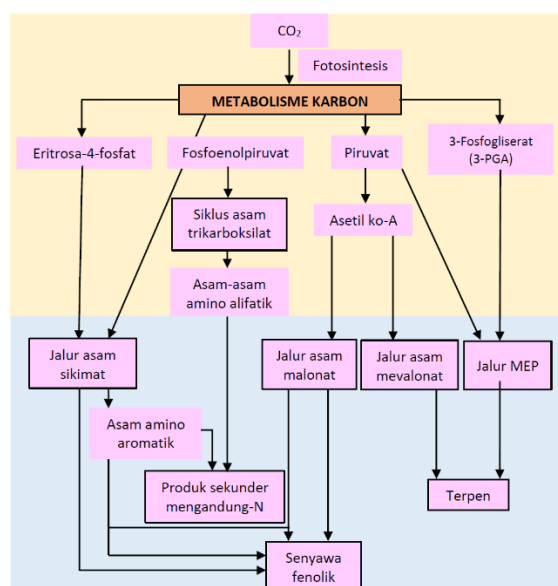
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan tanaman dengan bentuk dan jumlah yang berbeda pada tiap spesies. Senyawa ini diproduksi sebagai mekanisme pertahanan diri tanaman terhadap gangguan dari organisme lain maupun kondisi lingkungan. Hingga kini, diperkirakan terdapat sekitar 200.000 jenis metabolit sekunder. Untuk mengenali keragamannya, senyawa tersebut biasanya dikelompokkan berdasarkan sifat struktur, jalur biosintesis, maupun asal usulnya (Hersila *et al.*, 2023).

Senyawa metabolit sekunder memiliki berbagai fungsi penting bagi tanaman, antara lain: melindungi dari serangan jamur, virus, bakteri, tanaman pesaing, serta herbivora; berperan sebagai atraktan berupa rasa, aroma, atau warna untuk menarik polinator maupun hewan penyebar biji; dan memberikan perlindungan terhadap sinar ultraviolet sekaligus menyimpan cadangan nutrisi. Salah satu contoh metabolit sekunder yang berfungsi sebagai pertahanan adalah tanin. Senyawa ini bersifat antifungi dengan cara menghambat biosintesis ergosterol, yaitu sterol utama yang

disintesis oleh jamur sebagai komponen penting dinding selnya (Hersila *et al.*, 2023). Senyawa metabolit sekunder dibagi menjadi tiga kelas utama, adalah terpenoid, fenolik, dan senyawa yang didalamnya terdapat nitrogen (Elshafie, Camele & Mohamed, 2023).

Terpen merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder tanaman yang secara kimiawi berasal dari satuan isoprena dengan 5 atom karbon. Senyawa fenolik memiliki karakteristik umum yaitu adanya satu atau lebih gugus fenol. Klasifikasi senyawa fenolik dibagi berdasarkan strukturnya yaitu fenolik sederhana, tanin, dan flavonoid. Metabolit sekunder yang mengandung nitrogen adalah kelompok senyawa alami pada tumbuhan yang dalam struktur kimianya terdapat atom nitrogen, dan senyawa ini umumnya tidak terlibat langsung dalam pertumbuhan maupun perkembangan primer tanaman, tetapi berfungsi sebagai senyawa pertahanan, penarik penyerbuk, atau penangkal herbivora dan patogen. Kelompok utama dari senyawa metabolit yang mengandung metabolit sekunder adalah alkaloid, glikosida, sianogenik, dan glukosinolat (Elshafie *et al.*, 2023).

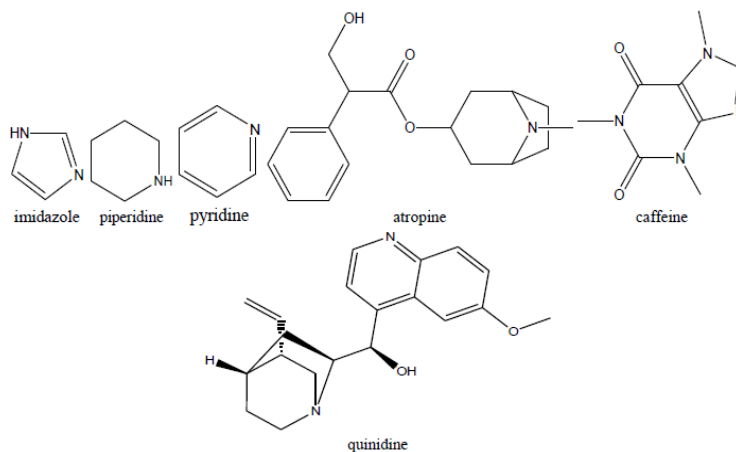


Gambar 2. 3 Beberapa jalur utama biosintesis metabolit sekunder (Lazar, 2015)

Senyawa metabolit sekunder dikelompokkan menjadi beberapa golongan berdasarkan struktur kimianya, yaitu :

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder dengan ciri-ciri struktur kimia utamanya terbentuk dari nitrogen (Tanjung *et al.*, 2025). Senyawa alkaloid umumnya terdapat dalam dua bentuk, yaitu bentuk bebas (basa) dan bentuk garam. Alkaloid dalam bentuk basa lebih mudah larut dalam pelarut organik seperti eter dan kloroform, lalu apabila berbentuk garam, senyawa ini lebih mudah larut dalam air. Secara umum, alkaloid memiliki rasa pahit dan menunjukkan aktivitas farmakologis yang khas. (Endarini, 2016.). Alkaloid memiliki peran sebagai antioksidan karena strukturnya terdapat pasangan elektron bebas karena terkandung atom nitrogen. Elektron bebas ini mampu menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mengurangi aktivitas oksidatif yang terjadi di dalam tubuh (Hasan, Thomas, Hiola, Ramadhani & Ibrahi, 2022).

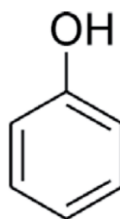


Gambar 2.4 Gambar contoh struktur inti dari alkaloid (Endarini, 2016)

2. Fenolik

Senyawa fenolik pada umumnya memiliki satu cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat sebagai ciri khasnya, dan merupakan metabolit sekunder yang paling banyak tersebar (Xu & Wang, 2025). Senyawa ini dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama: flavonoid (termasuk subkelas seperti flavon, flavanon, flavonol, flavanol, dan

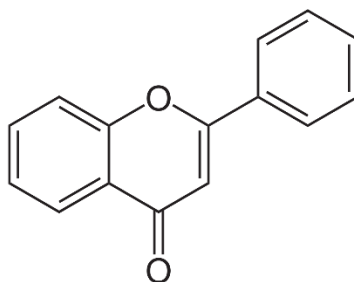
isoflavon) dan asam fenolik (dibagi menjadi asam hidroksibenzoat dan hidroksisinamat) (Jakubowska, Gradowski & Dobrzyński, 2025). Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan karena pada strukturnya terdapat gugus hidroksil (-OH). Gugus ini berfungsi sebagai donor atom hidrogen yang bereaksi dengan senyawa radikal melalui mekanisme transfer elektron, sehingga mampu menghambat dan menghentikan proses oksidasi yang terjadi (Allo, Suryanto & Koleangan, 2022)



Gambar 2.5 Gambar struktur fenolik (Al Mamari, 2022)

3. Flavonoid

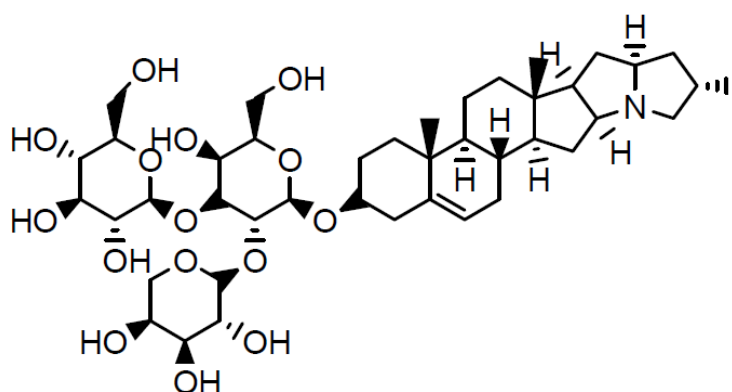
Flavonoid adalah senyawa alami yang berperan penting sebagai antioksidan utama, karena dapat menangkap dan menetralkan radikal bebas meskipun dalam jumlah atau konsentrasi yang rendah. Namun, pada jumlah radikal bebas yang berlebihan, flavonoid dapat berubah fungsi menjadi pro-oksidan. Sebagai antioksidan, flavonoid akan teroksidasi oleh radikal dan membentuk radikal baru yang lebih stabil atau netral. Aktivitas biologis flavonoid, termasuk sifat antioksidannya, erat kaitannya dengan struktur cincin yang dimilikinya. Struktur tersebut memungkinkan flavonoid bertindak sebagai agen pereduksi, penyumbang atom hidrogen, penangkap radikal superoksida, serta pengikat ion logam (Syahputra, 2024).



Gambar 2.6 Struktur flavonoid (Ayu Putu Widiastriani *et al.*, 2024)

4. Saponin

Saponin dikenal sebagai sistem pertahanan tanaman terhadap mikroorganisme patogen dan memiliki tri-terpenoid atau glikosida steroid yang berkonjugasi dengan rantai gula (satu atau lebih), dengan ikatan glikosida dalam strukturnya (Najjar-Tabrizi *et al.*, 2020). Saponin memiliki kemampuan membentuk busa karena strukturnya terbagi dari aglikon polisiklik yang berikatan dengan bisa sama dengan satu atau lebih gugus gula. Senyawa glikosida amfipatik ini akan membentuk busa ketika dikocok kuat dalam larutan, dan busa yang dihasilkan cenderung stabil serta tidak mudah hilang (Nurkhasanah & Dhurhania, 2023). Saponin mempunyai manfaat sebagai antioksidan dikarenakan dapat menetralkan superoksida lewat dibentuknya intermediat hiperoksida. Mekanisme tersebut membantu saponin dalam mencegah kerusakan biomolekul yang diakibatkan oleh radikal bebas (Artati *et al.*, 2024).

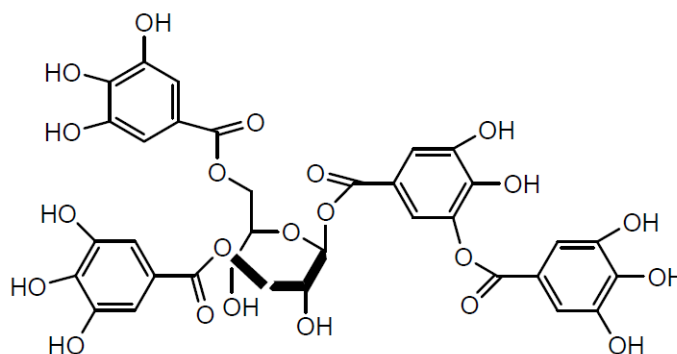


Gambar 2.7 Struktur saponin (Noer, Pratiwi & Gresinta, 2018)

5. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol alami yang tersusun atas banyak gugus benzena dan hidroksil. Gugus hidroksi fenolik bebas yang dimilikinya mampu berikatan secara stabil dengan protein (Suhaenah *et al.*, 2024). Tanin dibagi menjadi dua jenis utama, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis tersusun dari polimer asam galat dan asam elagat yang terikat pada molekul gula. Tanin terkondensasi merupakan

polimer dari senyawa flavonoid yang saling terikat melalui ikatan karbon-karbon, dan biasanya tersusun atas katekin serta *gallo catechin* (Subagyo *et al.*, 2024). Tanin memiliki gugus hidroksil ($-OH$) yang mampu menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga radikal tersebut berubah menjadi senyawa non-radikal yang lebih stabil (DPPH-H) (Artati *et al.*, 2024).

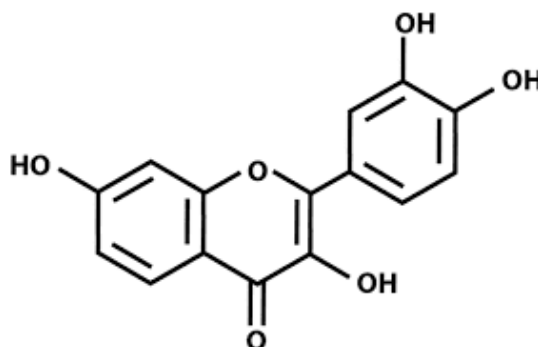


Gambar 2.8 Struktur tanin (Noer *et al.*, 2018)

6. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid merupakan turunan dari senyawa terpen yang mengalami proses dehidrogenasi dan oksidasi. Terpen sendiri adalah kelompok hidrokarbon dengan rumus molekul $(C_5H_8)_n$ yang terutama dihasilkan oleh tumbuhan, meskipun beberapa hewan seperti serangga juga memproduksinya. Terpenoid sering disebut isoprenoid karena kerangka karbonnya tersusun dari satuan isoprena, baik dalam bentuk rantai terbuka maupun siklik, serta dapat memiliki ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, atau gugus fungsional lain. Salah satu turunan penting dari terpenoid adalah triterpenoid, yaitu senyawa yang tersusun atas enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diena) dengan kerangka C_{30} yang berasal dari hidrokarbon asiklik skualena. Senyawa triterpenoid diketahui memiliki aktivitas farmakologi yang luas, di antaranya sebagai antivirus, antibakteri, antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan sintesis kolesterol, serta sebagai agen antikanker (Nola, Putri, Malik & Andriani, 2021).

Steroid berasal dari turunan triterpenoid yang mengalami modifikasi dengan sistem cincin tetrasiklik, ditandai dengan hilangnya tiga gugus metil pada posisi C-4 dan C-14. Kerangka utamanya tersusun atas empat cincin, yaitu satu cincin beranggota lima dan tiga cincin beranggota enam. Steroid memiliki aktivitas farmakologis sebagai anti kolestrol dan sebagai pencegah kanker (Farabi *et al.*, 2023).



Gambar 2.9 Struktur terpenoid dan turunannya (Noer *et al.*, 2018)

2.5 Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total dapat dilakukan dengan beberapa metode analisis. Metode *Folin–Ciocalteu* merupakan metode yang paling umum digunakan, dengan prinsip reaksi antara reagen *Folin–Ciocalteu* dan gugus fenol yang menghasilkan warna biru akibat reduksi kompleks fosfomolibdat–fosfotungstat, dan hasilnya dinyatakan sebagai *gallic acid equivalent* (GAE). Metode *Folin–Denis* sebagai metode klasik bekerja berdasarkan reaksi antara reagen *Folin–Denis* dan senyawa fenolik yang menghasilkan warna biru melalui proses reduksi, namun memiliki sensitivitas dan selektivitas yang lebih rendah dibandingkan metode *Folin–Ciocalteu*. Metode *Prussian Blue* bekerja berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang selanjutnya bereaksi dengan *ferricyanide* membentuk kompleks berwarna *Prussian Blue*. Metode *Fast Blue BB* menggunakan reaksi kopling *diazonium* antara reagen *Fast Blue BB* dan gugus fenolik sehingga menghasilkan warna yang relatif stabil dan lebih spesifik terhadap senyawa fenolik dibandingkan metode *Folin–Ciocalteu*. Metode spektrofotometri UV langsung dilakukan dengan mengukur absorbansi senyawa fenolik pada panjang gelombang tertentu,

umumnya sekitar 280 nm, namun metode ini kurang spesifik karena banyak senyawa lain juga dapat menyerap pada panjang gelombang tersebut. Selain itu, metode kromatografi seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi masing-masing senyawa fenolik secara individual dengan tingkat akurasi dan spesifisitas yang tinggi, meskipun metode ini lebih kompleks, mahal, dan tidak secara langsung merepresentasikan kadar fenolik total secara keseluruhan. (Lawag *et al.*, 2023) ; (Ravindranath *et al.*, 2021) ; (Lester *et al.*, 2012).

2.5.1 Metode *Folin-Ciocalteu*

Metode *Folin-Ciocalteu* adalah prosedur yang paling sering dipakai saat ini untuk menganalisis kadar fenolik total pada berbagai jenis sampel herbal. Prinsip metode ini didasarkan pada reaksi reduksi antara asam heteropoli fosfomolibdat Mo(VI) menjadi Mo(V), yang menghasilkan warna biru dan dapat diukur pada panjang gelombang maksimum tertentu. (Sari *et al.*, 2023).

Reagen folin-ciocalteu merupakan campuran dari fosfomolibdat dan fosfotungstat. Prosesnya dilakukan dengan merebus campuran yang terdiri atas natrium tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 g), natrium molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 25 g), asam klorida pekat (100 ml), asam fosfat 85% (50 ml), dan air (700 ml) selama kurang lebih 10 jam. Dari reaksi tersebut akan terbentuk larutan berwarna kuning yang mengandung senyawa kompleks asam fosfomolibdat ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) dan asam fosfotungstat ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) (Pérez, Dominguez-López & Lamuela-Raventós, 2023).

Metode *Folin-Ciocalteu* memiliki keterbatasan selektivitas, karena reduksi pereagen utamanya dapat dipicu oleh oksidasi senyawa non-fenolik, seperti logam (Fe^{2+} dan Mn^{2+}), ion iodida (I^-) dan sulfit (SO_3^{2-}), asam askorbat, tiol, nukleotida (guanina), triptofan, triosa

(gliseraldehida dan dihidroksiaseton), vitamin, dan protein. Faktor eksperimental lain yang juga memengaruhi kuantifikasi fenol adalah urutan penambahan pereagen, waktu reaksi, suhu reaksi, serta konsentrasi metanol pada campuran akhir yang diukur dengan spektrofotometri (Rizvi *et al.*, 2023).

2.6 Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan beberapa metode analisis. Metode kompleksasi aluminium klorida (AlCl_3) merupakan metode yang paling umum digunakan, dengan prinsip pembentukan kompleks antara ion Al^{3+} dan gugus hidroksil flavonoid yang menghasilkan warna kuning hingga kuning kehijauan, dan hasilnya dinyatakan sebagai *quercetin equivalent* (QE) atau *rutin equivalent* (RE). Metode kompleksasi aluminium nitrat juga digunakan berdasarkan pembentukan kompleks flavonoid–aluminium yang diukur secara spektrofotometri. Metode 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) digunakan khusus untuk penetapan flavonoid golongan flavanon dan flavanonol melalui pembentukan senyawa hidrazon berwarna. Metode spektrofotometri UV langsung dilakukan dengan mengukur absorbansi flavonoid pada panjang gelombang tertentu, umumnya 360–380 nm, namun metode ini memiliki spesifisitas rendah karena adanya interferensi dari senyawa lain. Selain itu, metode kromatografi seperti HPLC dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi masing-masing senyawa flavonoid secara individual dengan tingkat akurasi dan spesifisitas yang tinggi, meskipun metode ini lebih kompleks, mahal, dan tidak secara langsung merepresentasikan kadar flavonoid total secara keseluruhan (Nicolescu *et al.*, 2025 ; Ramos *et al.*, 2017 ; Andriani *et al.*, 2025).

2.6.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida

Pengujian kadar flavonoid total umumnya dikerjakan menggunakan metode kolorimetri dengan aluminium klorida (AlCl_3) sebagai reagen utamanya. Larutan AlCl_3 10% berfungsi menghasilkan efek

batokromik, yaitu pergeseran panjang gelombang serapan ke arah nilai yang lebih besar. Pergeseran ini menyebabkan panjang gelombang larutan standar akan berada dalam rentang deteksi spektrofotometer UV-Vis, yakni antara 400–800 nm. Seiring terjadinya efek batokromik tersebut, warna larutan menjadi lebih intens (Haresmita & Pradani, 2022).

Prinsip metode kolorimetri AlCl_3 didasarkan pada pembentukan kompleks antara aluminium klorida dan gugus fungsional tertentu pada struktur flavonoid. Aluminium klorida dapat berikatan dengan gugus keto di posisi C-4 serta gugus hidroksil di posisi C-3 dan C-5 pada senyawa flavon maupun flavonol, sehingga membentuk kompleks asam yang stabil. Selain itu, AlCl_3 juga mampu berinteraksi dengan gugus orto-dihidroksil pada cincin A atau B flavonoid dan membentuk kompleks yang labil. Penambahan AlCl_3 menyebabkan terbentuknya kompleks antara AlCl_3 dan flavonoid seperti kuersetin, yang ditandai dengan pergeseran panjang gelombang ke wilayah visible serta terjadinya warna larutan berubah menjadi kuning. (Erwiyani, *et al.*, 2021.).

2.7 Kadar Tanin Total

Penetapan kadar tanin total dapat dilakukan dengan beberapa metode analisis. Metode presipitasi gelatin merupakan salah satu metode klasik yang didasarkan pada kemampuan tanin untuk membentuk kompleks tidak larut dengan protein, seperti gelatin, sehingga tanin dapat dipisahkan dan ditentukan secara kuantitatif. Metode *Folin–Denis* juga banyak digunakan dengan prinsip reaksi antara reagen *Folin–Denis* dan senyawa tanin yang menghasilkan warna biru akibat proses reduksi, dan hasilnya dinyatakan sebagai *tannic acid equivalent* (TAE). Metode *Folin–Ciocalteu* dapat digunakan berdasarkan reaksi reduksi reagen *Folin–Ciocalteu* oleh gugus fenolik tanin, meskipun metode ini tidak sepenuhnya spesifik karena dapat bereaksi dengan senyawa fenolik lain. Metode *vanillin–HCl* digunakan

terutama untuk penetapan tanin terkondensasi (proantosianidin) melalui pembentukan kompleks berwarna merah. Metode *butanol-HCl* juga digunakan untuk analisis tanin terkondensasi berdasarkan pembentukan antosianidin berwarna setelah pemanasan dalam kondisi asam. Selain itu, metode kromatografi seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi masing-masing senyawa tanin secara individual dengan tingkat akurasi dan spesifisitas yang tinggi, meskipun metode ini lebih kompleks, mahal, dan tidak secara langsung merepresentasikan kadar tanin total secara keseluruhan (Zhang *et al.*, 2023) ; Shay *et al.*, 2017) ; Yenny, 2016).

2.7.1 Metode Prepitasi Gelatin

Gelatin merupakan polimer multifungsi yang diperoleh melalui proses hidrolisis parsial atau denaturasi panas kolagen yang terdapat pada kulit, tulang, serta jaringan ikat hewan. Senyawa ini tersusun atas 19 jenis asam amino, dengan glisin (27–35%), prolin, dan hidroksiprolin (20–24%) sebagai komponen utama penyusunnya. Komposisi asam amino ini sangat berpengaruh terhadap sifat lapisan atau film yang dihasilkan (Rather *et al.*, 2022).

Tanin merupakan senyawa fenolik yang bersifat larut dalam air dan memiliki berat molekul berkisar antara 500 hingga 3000. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk mengendapkan alkaloid, gelatin, serta berbagai jenis protein lainnya (Zhang, Guan, Zhang & Tang, 2023). Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki ciri khas dapat mengendapkan protein, membedakannya dari jenis polifenol lainnya. Kompleks antara tanin dan protein terbentuk secara stabil melalui interaksi hidrofobik serta ikatan hidrogen antara gugus hidroksil (-OH) pada tanin dengan gugus polar pada gelatin, seperti amida karbonil pada rantai peptida. Interaksi tersebut menghasilkan endapan berupa kompleks tanin-gelatin. Oleh karena itu, kadar tanin dapat ditentukan dengan menambahkan gelatin ke dalam sampel, kemudian

menghitung selisih jumlah polifenol total pada sampel dengan dan tanpa penambahan gelatin (Wardatun, Mahyuni & Mulyani, 2024).

2.8 Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada kulit terluarnya. Kondisi ini membuat radikal bebas sangat reaktif dan cenderung mencari pasangan elektron dari senyawa lain. Akibatnya, terbentuk rantai radikal baru yang terus berlanjut dan dapat merusak struktur molekul tertentu. Beberapa contoh radikal bebas antara lain radikal hidroksil, radikal peroksil, dan anion superoksida (Setiabudi, Pringgenies & Ridlo, 2020).

Radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) merupakan oksidan kuat yang dapat terbentuk di berbagai lingkungan melalui reaksi Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$). Reaktan pada reaksi ini berasal dari reduksi Fe^{3+} dan O_2 , yang dapat dipercepat oleh senyawa pereduksi organik, seperti hidrokuinon (Lyngsie *et al.*, 2018). Radikal peroksil ($\text{ROO}\cdot$) merupakan salah satu jenis radikal bebas yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Sifatnya yang sangat reaktif menjadikannya mampu menimbulkan kerusakan sel, misalnya melalui proses peroksidasi asam lemak pada membran sel (Ayu & Widiastuti, 2022.). Anion superoksida adalah radikal oksigen utama yang terbentuk ketika molekul oksigen menangkap satu elektron (Andrés, Pérez de la Lastra, Andrés Juan, Plou & Pérez-Lebeña, 2023).

Stres oksidatif merupakan kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif (radikal bebas) dengan sistem pertahanan antioksidan tubuh. Keadaan ini muncul saat aktivitas oksidasi melebihi kapasitas antioksidan sehingga memicu kerusakan jaringan dan berbagai gangguan seluler (Ayu & Widiastuti, 2022). Stres oksidatif melibatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat merusak makromolekul seluler, memicu modifikasi pada DNA dan protein, serta menyebabkan peroksidasi lipid. Pada diabetes melitus, peningkatan stres

oksidatif tidak hanya ditandai oleh bertambahnya produk kerusakan oksidatif dari protein, lipid, dan DNA, tetapi juga oleh perubahan kandungan jaringan dan penurunan fungsi sistem pertahanan antioksidan. Kondisi ini berperan penting dalam patogenesis komplikasi vaskular, baik pada pembuluh darah kecil (mikrovaskular) maupun pembuluh darah besar (makrovaskular). Penggunaan antioksidan dapat mencegah terjadinya stress oksidatif (Hasmar *et al.*, 2020).

2.9 Antioksidan

2.9.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas, sehingga dapat mencegah terjadinya proses biologis yang merugikan atau berbahaya di dalam tubuh. Senyawa ini berperan penting sebagai pelindung sel dan jaringan, karena mampu menunda atau menghambat oksidasi lipid dengan cara menginterupsi jalannya reaksi berantai oksidasi, sehingga menjaga kestabilan dan integritas komponen biologis tubuh (Setiabudi *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja antioksidan adalah dengan menetralkan radikal bebas melalui donasi atom hidrogen atau proton, sehingga radikal bebas yang sangat reaktif berubah menjadi senyawa yang lebih stabil dan tidak merusak. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan endogen yang bersifat enzimatik, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase, yang berfungsi mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Namun, ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas pertahanan alami tubuh, maka antioksidan tambahan dari luar (eksogen) seperti yang berasal dari makanan atau tumbuhan obat diperlukan untuk menjaga keseimbangan redoks dan mencegah kerusakan seluler (Artati *et al.*, 2024).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan diklasifikasikan menjadi dua golongan utama, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah senyawa yang diproduksi secara alami oleh tubuh untuk melindungi sel dari kerusakan akibat paparan radikal bebas. Enzim-enzim seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) termasuk dalam kelompok ini karena berperan penting dalam menjaga keseimbangan oksidatif di dalam tubuh. Di sisi lain, antioksidan eksogen merupakan senyawa yang diperoleh dari luar tubuh dan terbagi menjadi dua kategori, yaitu antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan alami umumnya ditemukan pada bahan pangan seperti buah-buahan, sayuran, dan tumbuhan yang kaya akan senyawa bioaktif, misalnya karotenoid, vitamin A, vitamin C, serta β -karoten, yang berfungsi membantu menetralkan radikal bebas secara efisien. Sebaliknya, antioksidan sintetis merupakan senyawa buatan yang banyak digunakan dalam industri makanan dan minyak untuk mencegah terjadinya oksidasi lemak, contohnya Butil Hidroksil Toluen (BHT), Butil Hidroksil Anisol (BHA), dan Tert-Butil Hidroksil Quinon (TBHQ). Namun demikian, penggunaan antioksidan sintetis harus dibatasi karena berpotensi bersifat karsinogenik jika dikonsumsi melebihi batas aman, yaitu tidak lebih dari 0,02% dari total kandungan lemak atau minyak (Setiabudi *et al.*, 2020).

Metode uji aktivitas antioksidan terdiri dari beberapa pendekatan yang umum digunakan dalam penelitian. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan metode yang paling banyak digunakan dengan prinsip penangkapan radikal bebas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning. Metode ABTS (*2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) didasarkan pada kemampuan antioksidan mereduksi radikal kation ABTS⁺ sehingga terjadi penurunan intensitas warna. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) mengukur kemampuan antioksidan dalam

mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) menilai kapasitas antioksidan berdasarkan reduksi ion Cu^{2+} menjadi Cu^+ . Metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal peroksil secara kinetik (Shafira Putri *et al.*, 2024) ; (Silvi, *et al.*, 2025 ; Christodoulou *et al.*, 2022).

Peran vitamin C (asam askorbat) sebagai antioksidan berkaitan dengan kemampuannya bertindak sebagai donor elektron atau atom hidrogen. Vitamin C memiliki gugus enediol yang mudah teroksidasi sehingga mampu menetralkan radikal bebas dengan cara mereduksi radikal tersebut menjadi bentuk yang lebih stabil. Dalam proses ini, vitamin C sendiri teroksidasi menjadi radikal askorbil yang relatif stabil dan tidak reaktif, sehingga menghentikan reaksi berantai oksidasi. Selain itu, vitamin C juga berperan sebagai antioksidan sekunder dengan meregenerasi antioksidan lain, seperti vitamin E, dari bentuk teroksidasinya kembali ke bentuk aktif, serta berkontribusi dalam menurunkan stres oksidatif di dalam sistem biologis (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022).

Vitamin C digunakan sebagai baku standar dalam uji DPPH karena memiliki aktivitas penangkap radikal yang kuat, mekanisme reaksi yang jelas, dan hasil yang konsisten. Pada uji DPPH, vitamin C dengan mudah mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), sehingga menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang dapat diukur secara spektrofotometri. Selain itu, vitamin C bersifat murni, stabil, mudah larut, murah, dan tersedia secara luas, sehingga sangat sesuai dijadikan standar pembanding. Nilai IC_{50} vitamin C yang relatif rendah dan reproduktif juga memungkinkan evaluasi potensi antioksidan sampel uji secara kuantitatif dan objektif, sehingga

vitamin C secara luas diterima sebagai standar referensi dalam pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH (Baliyan *et al.*, 2022) ; (Kumara *et al.*, 2018).

2.9.2 Metode DPPH

Metode DPPH adalah singkatan dari senyawa kimia yaitu *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*. DPPH berbentuk kristal dengan warna gelap dan dalamnya terdapat molekul radikal bebas yang stabil (Wulan *et al.*, 2019). DPPH merupakan metode uji aktivitas antioksidan yang umum digunakan karena metode ini tergolong metode yang sederhana dan tidak membutuhkan reagen yang banyak sehingga biaya relatif lebih murah dibandingkan dengan metode lainnya (Devitria *et al.*, 2020). Prinsip kerja dari metode DPPH adalah didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menyumbangkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH. Proses ini akan menyebabkan radikal bebas tersebut tereduksi membentuk non-radikal, yang dikenal dengan *diphenylpicrylhydrazine*. Perubahan tersebut dapat diamati secara langsung dengan melihat perubahan warna larutan dari berwarna ungu menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan telah bereaksi dengan DPPH dan berhasil menetralkan elektron bebasnya (Setiawan, Yunita & Kurniawan, 2018).

Metode DPPH memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode lainnya, yaitu prosedur analisisnya yang sederhana, cepat, mudah dalam prosedurnya, serta memiliki sensitivitas yang tinggi pada konsentrasi yang lebih kecil. Namun metode ini pun memiliki keterbatasan pula, yaitu radikal DPPH hanya dapat larut dalam pelarut organik, sehingga kurang optimal untuk menganalisis senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik (Sibua *et al.*, 2022).

Parameter utama dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*), yaitu

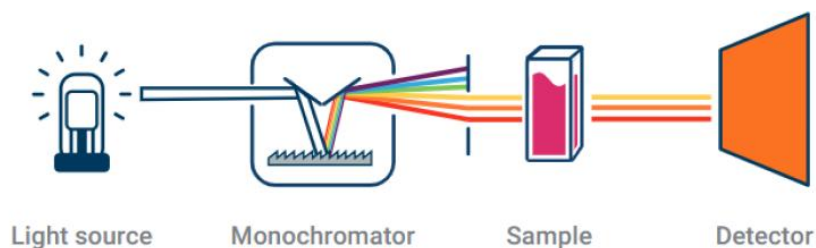
konsentrasi sampel yang diperlukan dalam menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi kemampuan antioksidan suatu sampel dapat menetralkan radikal bebas. Sebaliknya, nilai IC_{50} yang lebih besar menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan sampel tersebut lebih rendah (Putri, 2020)

2.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah metode analisis yang digunakan untuk mengukur absorbansi radiasi elektromagnetik oleh suatu analit dalam larutan, dengan tujuan menentukan konsentrasi senyawa di dalam larutan tersebut (Ríos-Reina & Azcarate, 2023). Prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis terletak pada pengukuran panjang gelombang serta intensitas cahaya ultraviolet (UV) dengan rentang 200–400 nm dan cahaya tampak (*Visible*) dengan rentang 400–800 nm yang diserap oleh sampel, sehingga menghasilkan spektrum yang dapat dimanfaatkan untuk menganalisis unsur atau senyawa kimia, mempelajari struktur molekul, serta menentukan komposisi suatu bahan (Luna, Randau, Ferreira & Soares, 2022). Pada proses ini, cahaya UV maupun Visible yang mengenai sampel akan diserap dan menimbulkan transisi elektronik, yaitu perpindahan elektron dari tingkat energi dasar menuju tingkat energi yang lebih tinggi (Sıdır, 2025).

Alat spektrofotometer UV-Vis terdiri atas beberapa komponen utama, di antaranya sumber cahaya (lampu deuterium atau tungsten), kuvet sebagai wadah sampel, monokromator sebagai pemisah panjang gelombang cahaya, serta detektor yang menangkap sinyal cahaya hasil interaksi dengan sampel (Vallbona, Kajtazi, & Shahtahmassebi, 2025). Sumber cahaya seperti lampu deuterium, tungsten, dan xenon berfungsi menghasilkan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang ultraviolet dan Visible yang kemudian diteruskan menuju monokromator. Monokromator ini terdiri atas celah masuk, lensa kolimasi, perangkat pendispersi, lensa pemfokus, serta celah keluar (Lee *et al.*, 2023). Cahaya

polikromatis yang masuk melalui celah akan dipisahkan sehingga hanya satu panjang gelombang tertentu yang diarahkan ke dalam kuvet berisi sampel. Selanjutnya, cahaya yang telah melewati sampel akan diterima oleh detektor, diubah menjadi sinyal listrik, dan digunakan untuk menentukan jumlah radiasi yang diserap oleh sampel (González-Morales *et al.*, 2020).



Gambar 2. 10 prinsip pengukuran dalam spektrofotometer (Agilent, 2021)

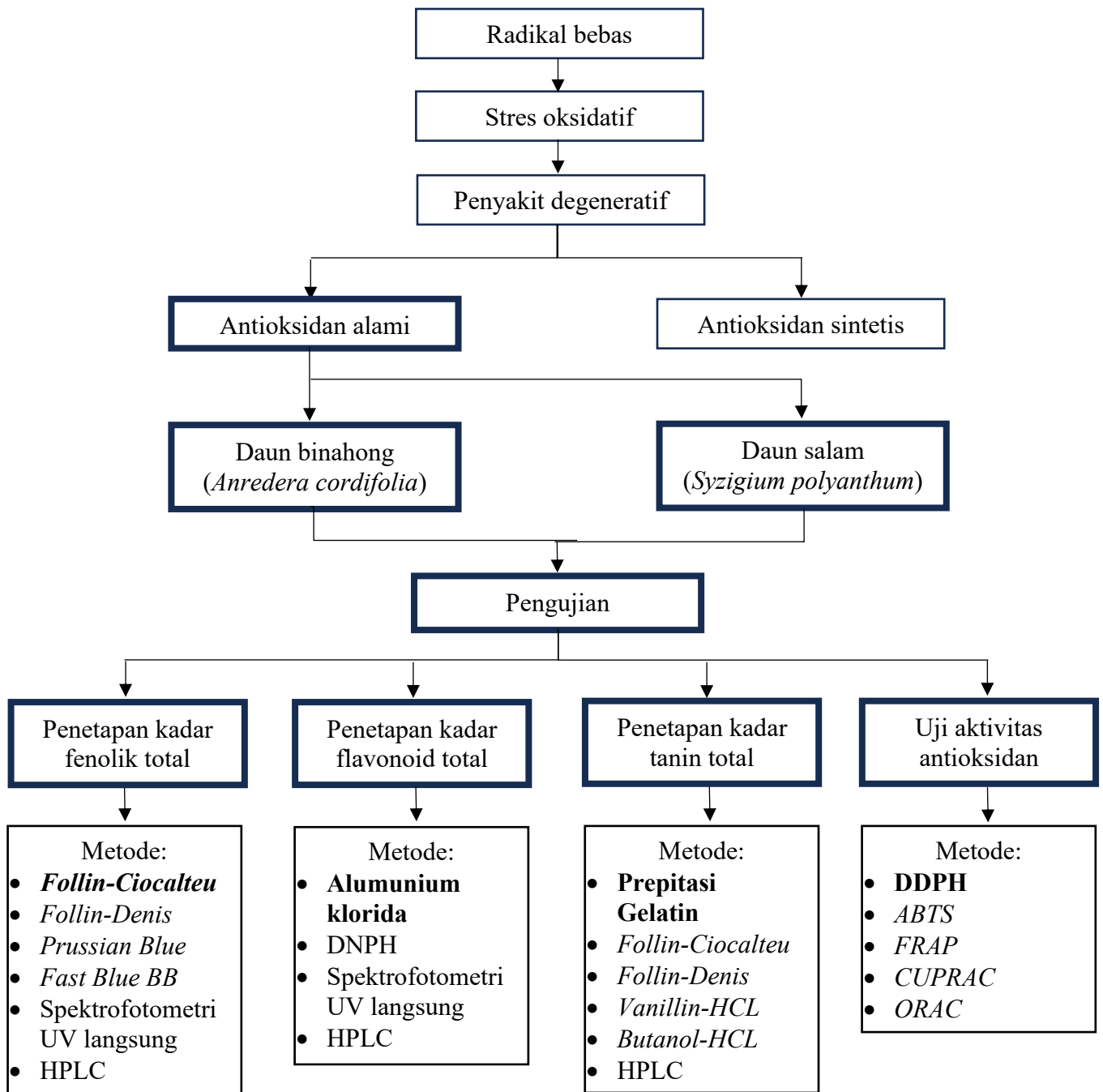
Pengukuran nilai absorbansi suatu sampel mengacu pada hukum Lambert–Beer, yang menjelaskan bahwa intensitas cahaya monokromatik yang diserap oleh suatu zat berbanding lurus dengan konsentrasi zat tersebut dalam larutan. Artinya, semakin tinggi konsentrasi suatu senyawa, maka semakin besar pula jumlah cahaya yang diserap. Prinsip dasar ini menjadi landasan metode spektrofotometri dalam menentukan kadar senyawa secara kuantitatif (González-Morales *et al.*, 2020). Berdasarkan hukum tersebut, konsentrasi zat dapat dihitung menggunakan persamaan berikut (Luna *et al.*, 2022):

$$A = \epsilon \times b \times C$$

Keterangan:

- A : nilai absorbansi
- ϵ : koefisien absorptivitas molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
- b : panjang lintasan cahaya/ketebalan kuvet (cm)
- C : konsentrasi larutan (M)

2.11 Kerangka Teori



Gambar 2. 11 Kerangka teori

Keterangan :

- : Variabel yang akan diteliti
 : Variabel yang tidak diteliti

2.12 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

Hipotesis 1

H0 : Tidak terdapat perbedaan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat dengan beberapa perbandingan kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*).

H1 : Terdapat perbedaan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat dengan beberapa perbandingan kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*).

Hipotesis 2

H0 : Tidak terdapat hubungan antara antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat dengan beberapa perbandingan kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*).

H1 : Terdapat hubungan antara kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% dan etil asetat dengan beberapa perbandingan kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) serta daun salam (*Syzygium polyanthum*).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total, kadar flavonoid total, tanin total, serta aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*). Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀). Penelitian ini menggunakan lima variasi konsentrasi perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 % b/b dari ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk akan melakukan determinasi tanaman, Laboratorium Farmasetika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan proses pembuatan simplisia kering dan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan proses penguapan ekstrak cair, penetapan kadar total fenolik, flavonoid, tanin dan uji aktivitas antioksidan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2025 hingga Desember 2025.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Peralatan yang akan dipakai dalam penelitian ini yaitu botol vial, *erlenmeyer* (Pyrex®), pipet volume (Iwaki®), labu ukur (Pyrex®), gelas kimia (Iwaki®), gelas ukur (Pyrex®), batang pengaduk, tabung reaksi (Pyrex®), *chopper/blender*, kain hitam *oven*, *Ultrasonic Assisted Extraction* (Ovan®), *kuvet* (Shimadzu®), spektrofotometer UV – Vis (Shimadzu UV-1900i®), corong (Pyrex®), kertas saring, neraca analitik, alumunium foil, *rotary evaporator* (IKA®), *waterbath*, pH meter (HANNA Instruments®), dan *vortex mixer*.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini yaitu daun binahong dan daun salam, DPPH (2,2- *diphenyl-picrylhydrazil*) (Sigma-aldrich®), etanol 70%, etil asetat, etanol 96%, aquades, vitamin C (Merck®), asam galat (Sigma-aldrich®), *folin-ciocalteu* (Merck®), *Mayer* (Merck®), Na₂CO₃ (natrium karbonat) (Merck®), kuersetin (Sigma-aldrich®), NaNO₂ (sodium nitrite) (Merck®), HCl (asam klorida) (Merck®), AlCl₃ (aluminium klorida) (Sigmaaldrich®), kloroform (Merck®), FeCl₃ (ferri klorida) (Merck®), Mg (magnesium) (Merck®), NaOH (natrium hidroksida) (Merck®), H₂SO₄ (asam sulfat) (Merck®), NaCl (natrium klorida) (Merck®), gelatin pro analysis (Sigma-aldrich®), timbal asetat (Sigma-aldrich®), asam trikloroasetat (Sigma-aldrich®), dan CH₃COOK (kalium asetat) (Merck®).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas (*independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini meliputi jenis pelarut (etanol 70% dan etil asetat) dan konsentrasi kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

3.4.2 Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi kadar fenolik total (mg GAE/g), kadar flavonoid total (mg QE/g), kadar tanin total (mg GAE/g) dan uji aktivitas antioksidan (mg AAE/g) dari konsentrasi tunggal maupun kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*).

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini meliputi kontrol positif pada uji total fenolik yaitu asam galat, uji total flavonoid yaitu kuersetin, uji total tanin yaitu presipitasi gelatin dan uji aktivitas antioksidan yaitu asam askorbat.

3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional penelitian ini dijelaskan pada **Tabel 3.1** dibawah ini.

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas				
Jenis pelarut	Jenis pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 70% dan etil asetat.	Melihat nilai indeks polaritas dari tiap pelarut	Jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda. Keterangan : Polar	Ordinal

Variasi perbandingan konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Perbandingan konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dengan menggunakan neraca analitik	Menimbang ekstrak dengan menggunakan neraca analitik	Semi-polar	Rasio
			Non-polar	
			Perolehan konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 b/b (mg)	

Variabel Terikat

Kadar fenolik total	Jumlah total senyawa fenolik yang diperoleh pada konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Menggunakan metode <i>Folin – Ciocalteu</i> untuk mengukur kadar senyawa fenolik yang ada pada kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Kadar fenolik total dengan pembanding asam galat (mg GAE/g)	Rasio
Kadar flavonoid total	Jumlah total senyawa flavonoid yang diperoleh pada konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak daun	Menggunakan metode kolorimetri untuk mengukur kadar senyawa flavonoid yang ada pada kombinasi	Kadar flavonoid total dengan pembanding kuersetin (mg QE/g)	Rasio

	binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).		
Kadar tanin total	Jumlah total senyawa tanin yang diperoleh pada konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Menggunakan metode presipitasi gelatin untuk mengukur kadar senyawa tanin yang ada pada kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Kadar tanin total dengan pembanding gelatin (mg GAE/g)	Rasio
Uji aktivitas antioksidan	Nilai yang diperoleh pada konsentrasi tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dalam menghambat 50% radikal bebas DPPH	Menggunakan metode DPPH untuk mengukur IC_{50} kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Nilai IC_{50} pada kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dengan keterangan: $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$ = sangat kuat $IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/ml}$ = kuat $IC_{50} 101\text{-}150 \mu\text{g/ml}$ = sedang	Rasio

IC₅₀ 151-200
 $\mu\text{g/ml}$ =
 lemah

(Itam *et al.*, 2021)

Variabel Kontrol					
Asam galat	Asam galat dipakai sebagai pembanding karena termasuk senyawa fenolik alami dan stabil (Tommy <i>et al.</i> , 2022).	Membuat larutan stok asam galat yang kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrometer UV-Vis.	Kurva standar asam galat	Rasio	
Kuersetin	Kuersetin dipakai sebagai pembanding karena merupakan senyawa yang penyebarannya paling luas pada tumbuhan (Tommy <i>et al.</i> , 2022).	Membuat larutan stok kuersetin yang kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrometer UV-Vis.	Kurva standar kuersetin	Rasio	
Gelatin	Gelatin dipakai sebagai metode standar untuk memisahkan tannin dari total fenolik sebelum mengukur TPC dengan Folin–Ciocalteu. Ini memastikan bahwa hasil uji tanin total adalah tepat dan dibandingkan secara valid dengan tannin non-terikat (Fraga-Corral <i>et al.</i> , 2021)	Kadar tanin total diukur dengan membandingkan total fenolik sebelum dan sesudah penambahan gelatin, di mana selisihnya menunjukkan kandungan tanin.	Kurva standar asam galat	Rasio	

Asam askorbat	Asam askorbat	Membuat larutan	Nilai IC_{50} dari Rasio
dipakai	sebagai	stok asam askorbat	asam askorbat
pembanding	karena	yang kemudian	dengan
merupakan		diukur dengan	keterangan:
antioksidan alami	absorbansinya		$IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml} =$
murni yang memiliki	menggunakan		sangat kuat
kemampuan sangat	spektrometer UV-		
tinggi dalam	<i>Vis.</i>		$IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/ml}$
menetralkan atau			$= \text{kuat}$
menghambat			
aktivitas radikal			$IC_{50} 101\text{-}150$
bebas DPPH.			$\mu\text{g/ml} = \text{sedang}$
			$IC_{50} 151\text{-}200$
			$\mu\text{g/ml} = \text{lemah}$
			(Itam <i>et al.</i> , 2021)

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel

Sampel penelitian yang dipakai dalam penelitian ini yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia*) yang diperoleh dari Kabupaten Lampung Tengah dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh dari Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung.

3.6.2 Uji Determinasi Tanaman

Proses determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan ketepatan identitas dan klasifikasi spesies dari tanaman yang digunakan, sehingga dapat menghindarkan dari kesalahan dalam proses pengumpulan atau identifikasi sampel tanaman (Klau & Hesturini, 2021). Determinasi tanaman dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Daun binahong dan daun salam masing-masing ditimbang sebanyak 10 kg, kemudian dibersihkan dan dipisahkan dari rantingnya. Setelah itu, daun dicuci di bawah air mengalir hingga seluruh kotoran hilang. Proses pengeringan dilakukan dengan cara menjemur daun di bawah sinar matahari selama tiga hari, dengan bagian atas daun ditutup menggunakan kain hitam untuk menghindari paparan langsung. Selanjutnya, daun yang telah kering dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah proses pengeringan selesai, sampel disortir kembali untuk menghilangkan sisa kotoran, kemudian digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia (Izza & Adrianto, 2024 ; Rivai *et al.*, 2015)

3.6.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun binahong dan daun salam dilakukan dengan metode *Ultrasonic-Assisted-Extraction* menggunakan etanol 70% dan etil asetat selama 30 menit pada suhu 40°C dengan memakai perbandingan simplisia dan pelarut yaitu 1 : 10 b/v (Singh *et al.*, 2024).

1. Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Salam

Ekstraksi daun binahong dan daun salam dilakukan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) sesuai dengan prosedur yang telah dikembangkan oleh (Singh *et al.*, 2024). Sebanyak 250 gram serbuk daun binahong dan daun salam direndam dalam pelarut etanol 70% dan etil asetat dengan perbandingan 1:10 (b/v). Sebanyak 250 gram serbuk daun masing-masing dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dan etil asetat menggunakan perbandingan 1:10 (b/v). Proses ekstraksi dilakukan menggunakan *Ultrasonic Cleaning Bath* pada frekuensi 40 kHz selama 30 menit pada suhu terkontrol 40°C. Setelah proses selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan

ampas dari filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan putaran 70 rpm hingga diperoleh ekstrak kental (Tourabi *et al.*, 2025 ; Singh *et al.*, 2024).

2. Rendeman Ekstrak

Dilakukan perhitungan dengan membandingkan bobot ekstrak yang diperoleh terhadap bobot serbuk simplisia awal, dinyatakan dalam persen (% b/b). Penghitungan ini bertujuan untuk mengetahui efisiensi proses ekstraksi serta jumlah ekstrak yang berhasil dihasilkan dari bahan baku yang digunakan (Panjaitan & Meze, 2022). Rendemen ekstrak yang baik ditunjukkan oleh nilai persentase hasil ekstraksi yang lebih dari 10%. Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus sebagai berikut (Senduk, Montolalu & Dotulong, 2020)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

3.6.5 Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi komponen yang terkandung dalam suatu tumbuhan, meliputi senyawa aktif, struktur kimia, fungsi biologis, serta perbandingan kandungan senyawa kimia antara berbagai jenis tanaman (Safutri, Karim & Fevinia, 2022). Dalam penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*). Oleh karena itu, dilakukan uji skrining fitokimia sebagai langkah awal analisis kandungan senyawa aktif pada kedua daun tersebut seperti berikut:

1. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g sampel ditambahkan dengan 5 ml air aquadest hingga seluruh bagian sampel terendam, kemudian dipanaskan menggunakan penangas air selama 2–3 menit. Setelah itu, larutan dikocok dengan kuat. Apabila terbentuk busa yang bertahan selama 10–15 menit dan busa tersebut hilang setelah diteteskan HCl, hal ini menunjukkan keberadaan saponin dalam sampel (Itam *et al.*, 2021).

2. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak cair diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian 1 ml larutan kalium bismut iodida (reagen Dragendorff) ditambahkan dan dikocok. Endapan merah jingga yang terbentuk menunjukkan adanya alkaloid (Abubakar & Haque, 2020).

3. Uji Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 ml HCl 1% dan sedikit serbuk magnesium. Apabila terbentuk warna kuning, hal ini menandakan keberadaan flavonoid dalam sampel (Souhoka, Kapelle & Sihasale, 2021).

4. Uji Fenolik

Sebanyak 1 ml reagen Mayer dalam larutan asam ditambahkan ke dalam larutan ekstrak cair. Adanya senyawa fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih (Abubakar & Haque, 2020).

5. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak cair dicampur dengan 2 ml larutan FeCl₃. Terbentuknya endapan berwarna hijau hingga kehitaman menandakan keberadaan tanin dalam ekstrak tersebut (Rahimah, Djunaedi, Soeroto & Bisri, 2019).

6. Uji Terpenoid dan Steroid

- Uji Terpenoid

Sebanyak 2 ml asam trikloroasetat dimasukkan bersama ke dalam 1 ml ekstrak cair. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah (Kancherla *et al.*, 2019).

- Uji Steroid

Ekstrak cair dikocok dengan kloroform dan H₂SO₄ pekat ditambahkan di sepanjang dinding tabung reaksi. Jika warna merah muncul, menunjukkan adanya steroid (Kancherla *et al.*, 2019).

3.6.6 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang dibuat yaitu larutan uji kombinasi ekstrak daun binahong dan daun salam serta ekstrak tunggal dari masing-masing tanaman dengan perbandingan antara daun binahong dan salam sebesar 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 %b/b seperti pada **Tabel 3.2** (Suprijono & Hesti Wulan, 2022 ; Himawan *et al.*, 2021)

Tabel 3.2 Perbandingan ekstrak daun binahong dan daun salam

Perbandingan Daun Binahong dan Daun Salam	Ekstrak Etanol 70% dan Etil Asetat (mg)
1:1	50:50
2:1	67:33
1:2	33:67
2:0	100:0
0:2	0:100

3.6.7 Uji Kadar Fenolik Total

Dalam penelitian ini, kadar fenolik total dianalisis dengan metode *Folin–Ciocalteu* yang telah dimodifikasi berdasarkan penelitian Pereira, Arruda & Pastore 2018) dengan modifikasi. Tahapan uji ini mencakup pembuatan larutan standar asam galat, penentuan panjang gelombang maksimum asam galat, pembuatan kurva baku asam galat, serta pengukuran kadar fenolik total pada sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV–Vis.

Berikut merupakan langkah – langkah dalam pengujian kadar fenolik total yaitu :

1. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat dengan konsentrasi 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg asam galat dan melarutkannya dalam etanol 96% hingga mencapai volume total 100 ml. Dari larutan stok ini, dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Larutan-larutan ini kemudian digunakan untuk membuat kurva baku, yang nantinya akan diperoleh persamaan regresi linear untuk menghitung persentase kadar fenolik total pada sampel (Sam, Malik & Handayani, 2022)

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Masing-masing larutan standar dengan konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml, kemudian ditambahkan 0,5 ml reagen Folin–Ciocalteu. Campuran tersebut dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4,0 ml larutan Na_2CO_3 7,5% dan dikocok kembali sampai tercampur sempurna. Volume larutan kemudian disesuaikan hingga 10 ml dengan penambahan aquades steril, lalu didiamkan selama 45 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi,

absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 400–800 nm. Data hasil pengukuran digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$) dan nilai absorbansinya (Sam *et al.*, 2022).

3. Pembuatan Kurva Baku Asam galat

Pembuatan kurva baku asam galat dilakukan dengan menggunakan masing-masing larutan stok asam galat pada berbagai konsentrasi. Dari setiap konsentrasi, sebanyak 0,5 ml larutan dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 0,5 ml reagen Folin–Ciocalteu, kemudian campuran dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4,0 ml larutan Na_2CO_3 7,5% dan dikocok kembali hingga tercampur sempurna. Volume larutan kemudian disesuaikan menjadi 10 ml dengan penambahan aquades steril, lalu dibiarkan selama 45 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang maksimum 765 nm, dan hasil pengukuran digunakan untuk menyusun kurva baku asam galat (Rahmah, Nurfila & Sari, 2022).

4. Pengukuran Kadar Fenolik Total Menggunakan Spektrofotometri UV-*Vis*

Total Kandungan Fenolik diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan menggunakan reagen Folin Ciocalteu. Ekstrak tanaman dibuat larutan kombinasi etanol 70% dan etil asetat dengan memakai perbandingan 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1, 2 : 0, dan 0 : 2 % b/b. Konsentrasi 1 g / 1 ml (etanol 70 % atau etil asetat) dari setiap perbandingan disiapkan. Kemudian, sebanyak 0,5 ml reagen Folin–Ciocalteu ditambahkan ke dalam larutan, dikocok hingga homogen, dan dibiarkan selama 8 menit. Setelah itu, 4,0 ml larutan Na_2CO_3 7,5% ditambahkan, lalu campuran kembali dikocok

hingga merata. Volume larutan disesuaikan menjadi 10 ml dengan penambahan aquades steril, kemudian dibiarkan selama 45 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 765 nm. Dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali replikasi (Mahboubi, Kazempour & Nazar, 2022).

3.6.8 Uji Kadar Flavonoid Total

Dalam penelitian ini dilakukan analisis terhadap kadar flavonoid total dengan metode yang telah dilakukan oleh Tommy *et al.*, (2022) dengan modifikasi. Pengujian ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding dan reagen $AlCl_3$. Tahapan dalam pengujian ini yaitu pembuatan larutan baku induk kuersetin, penetapan λ optimum kuersetin, pembuatan kurva baku kuersetin, dan penetapan kadar total flavonoid sampel.

Berikut adalah tahapan dalam melakukan pengujian kadar flavonoid total yaitu :

1. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin dibuat dengan menimbang 50 mg kuersetin, kemudian melarutkannya dalam etanol menggunakan labu ukur 100 ml, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, larutan baku ini diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 50, 60, 70, 80, dan 100 ppm, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol hingga mencapai tanda batas (Masykuroh *et al.*, 2024).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 1 ml larutan baku induk kuersetin dipipet, lalu ditambahkan 1 ml larutan $AlCl_3$ 10% serta 0,1 ml larutan kalium asetat 0,1 M. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30

menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang. Setelah inkubasi selesai, pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada rentang panjang gelombang 400–600 nm (Masykuroh *et al.*, 2024).

3. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin yang telah dibuat, diambil sebanyak 1 ml pada setiap konsentrasinya. Sampel yang telah dipipet kemudian direaksikan dengan 1 ml AlCl₃ 10%, dan 0,1 ml kalium asetat 0,1 M ke dalam larutan tersebut. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama sekitar 30 menit. Setelah inkubasi selesai, absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415–425 nm (Benjamaa *et al.*, 2024).

4. Penetapan Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri UV-*Vis*

Larutan ekstrak tanaman dibuat dalam bentuk kombinasi etanol 70% dan etil asetat dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 % b/b. Berbagai konsentrasi ekstrak kemudian dilarutkan dalam 30 ml etanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Dari setiap konsentrasi, diambil 1 ml larutan dan direaksikan dengan 1 ml AlCl₃ 10%, dan 0,1 ml kalium asetat 0,1 M. Campuran ini diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama sekitar 30 menit. Setelah inkubasi, absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415–425 nm (Benjamaa *et al.*, 2024).

3.6.9 Uji Kadar Tanin Total

Analisis kadar tanin total pada ekstrak tanaman dilakukan dengan metode prepitasi gelatin, seperti diterapkan dalam penelitian (Wardatun *et al.*, 2024) sebelumnya dengan modifikasi.

Berikut adalah tahapan dalam melakukan pengujian kadar tanin total yaitu :

1. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat dengan konsentrasi 500 ppm dibuat dengan menimbang 50 mg asam galat dan melarutkannya dalam etanol 96% hingga mencapai volume total 100 ml. Dari larutan stok ini, dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Larutan-larutan ini kemudian digunakan untuk membuat kurva baku, yang nantinya akan diperoleh persamaan regresi linear untuk menghitung persentase kadar fenolik total pada sampel (Sam, Malik & Handayani, 2022)

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Masing-masing larutan standar dengan konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml, kemudian ditambahkan 0,5 ml reagen Folin–Ciocalteu. Campuran tersebut dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4 ml larutan Na_2CO_3 7,5% dan dikocok kembali sampai tercampur sempurna. Volume larutan kemudian disesuaikan hingga 10 ml dengan penambahan aquades steril, lalu didiamkan selama 45 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 400–800 nm. Data hasil pengukuran digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$) dan nilai absorbansinya (Sam *et al.*, 2022)

3. Pembuatan Kurva Baku Asam galat

Pembuatan kurva baku asam galat dilakukan dengan menggunakan masing-masing larutan stok asam galat pada berbagai konsentrasi. Dari setiap konsentrasi, sebanyak 0,5 ml larutan dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 0,5 ml reagen Folin–Ciocalteu, kemudian campuran dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4 ml larutan Na_2CO_3 7,5% dan dikocok kembali hingga tercampur sempurna. Volume larutan kemudian disesuaikan menjadi 10 ml dengan penambahan aquades steril, lalu dibiarkan selama 45 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang maksimum 765 nm, dan hasil pengukuran digunakan untuk menyusun kurva baku asam galat (Rahmah, Nurfila & Sari, 2022).

4. Pembuatan Larutan Sampel

Larutan ekstrak tanaman dibuat dalam bentuk kombinasi etanol 70% dan etil asetat dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 % b/b. Masing-masing bentuk kombinasi dibagi menjadi tiap kombinasinya dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Dua labu ukur 10 ml diberi label A dan B. Pada labu A, yang digunakan untuk mengukur total polifenol termasuk tanin, 1 ml larutan ekstrak diencerkan dengan etanol hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya, 1 ml larutan dari labu A dipipet, ditambahkan 0,5 ml Folin–Ciocalteu dan diinkubasi selama 8 menit. Selanjutnya tambahkan 2 ml larutan Na_2CO_3 7,5%, dan air aquades hingga tanda batas dalam labu ukur 10 ml. Larutan ini dikocok, diinkubasi selama 45 menit pada suhu ruang, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang 765 nm (Wardatun *et al.*, 2024).

5. Pembuatan Larutan Bebas Tanin

Pada labu ukur B (yang mengandung polifenol tanpa tanin), 1 ml larutan ekstrak ditambahkan dengan 5 ml gelatin 1% dan diencerkan menggunakan etanol. Larutan kemudian dibiarkan beberapa saat hingga endapan terbentuk sempurna, lalu disaring untuk memperoleh larutan bebas tanin. Sebanyak 1 ml larutan hasil saringan diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dan diproses dengan prosedur yang sama seperti pada tabung A. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam galat dengan berbagai konsentrasi sebagai senyawa standar (Wardatun *et al.*, 2024).

Perhitungan Kadar Tanin Total

Kadar tanin dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar tanin (C)} = C_a - C_b$$

dengan keterangan:

C_a = konsentrasi total polifenol (termasuk tanin).

C_b = konsentrasi polifenol tanpa tanin (setelah perlakuan gelatin).

(Wardatun *et al.*, 2024)

3.6.10 Uji Aktivitas Antioksidan

Dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yang telah dilakukan oleh (Kanggaran, Siagian & Syahputra, 2025) sebelumnya dengan modifikasi.

Tahapan pada uji aktivitas antioksidan dijelaskan sebagai berikut :

1. Pembuatan Larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH diawali dengan menimbang sebanyak 10 mg serbuk DPPH, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 100 ml. Serbuk tersebut dilarutkan menggunakan etanol hingga mencapai tanda batas dan dikocok dengan vortex hingga homogen, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan selanjutnya didiamkan selama 30 menit, lalu disimpan dalam wadah tertutup rapat yang dibungkus aluminium foil untuk menghindari paparan langsung dari sinar matahari (Sharen Salikode *et al.*, 2024).

2. Pembuatan Larutan Blanko

Pembuatan larutan blanko DPPH dilakukan dengan memipet sebanyak 2 ml larutan DPPH yang telah disiapkan sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 5 ml. Larutan tersebut diencerkan menggunakan etanol hingga mencapai tanda batas dan dihomogenkan. Selanjutnya, larutan dibiarkan selama 50 menit dalam kondisi gelap untuk mencegah degradasi akibat cahaya. Setelah inkubasi, pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 516–517 nm (Sharen Salikode *et al.*, 2024).

3. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan blanko yang telah disiapkan selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada rentang panjang gelombang 400–800 nm (Anton *et al.*, 2021).

4. Pengukuran Absorbansi DPPH

Larutan kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat dibuat sesuai perbandingan yang telah ditentukan, kemudian dilarutkan dalam 150 ml etanol untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan kombinasi tersebut, disiapkan seri konsentrasi masing-masing sebesar 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm untuk pelarut etil asetat serta 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm untuk pelarut etanol 70%. Setiap larutan ekstrak diambil sebanyak 2 ml, kemudian dicampurkan dengan 2 ml larutan DPPH 100 ppm. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-*Vis*. Seluruh prosedur dilakukan dalam tiga kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang valid dan konsisten (Safithri, Nur Faridah, Ramadani & Pratama, 2022).

5. Pengukuran Absorbansi DPPH setelah Penambahan Asam Askorbat

Sebanyak 5 mg asam askorbat kristal ditimbang, kemudian dilarutkan menggunakan metanol dalam labu ukur berkapasitas 50 ml hingga mencapai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan induk tersebut, dibuat seri konsentrasi sebesar 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Setiap larutan kemudian ditambahkan 2 ml larutan DPPH 100 ppm dan dihomogenkan. Setelah inkubasi pada kondisi gelap selama 30 menit, absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali untuk memastikan keakuratan dan replikasi data (Asif *et al.*, 2021).

6. Penentuan Persentase Penghambatan DPPH

Perubahan nilai absorbansi larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel dihitung untuk mengetahui tingkat penurunan serapan yang terjadi. Penurunan nilai absorbansi ini menunjukkan kemampuan sampel dalam mereduksi radikal bebas DPPH, sehingga menjadi dasar dalam penentuan aktivitas antioksidan. Persentase penurunan absorbansi ini kemudian ditentukan dengan membandingkan selisih antara absorbansi awal DPPH dan absorbansi setelah penambahan sampel terhadap absorbansi awal, menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} : \frac{A_{\text{kontrol (DPPH)}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol (DPPH)}}} \times 100\%$$

(Asif *et al.*, 2021)

Keterangan :

A_{kontrol} : absorbansi yang dalamnya tidak ada sampel

A_{sampel} : absorbansi yang dalamnya ada sampel

Kemampuan antioksidan diukur berdasarkan penurunan nilai absorbansi larutan DPPH, yang ditandai dengan berkurangnya intensitas warna ungu akibat tereduksinya radikal DPPH oleh senyawa antioksidan dalam sampel. Selisih antara nilai absorbansi awal dan setelah penambahan sampel digunakan untuk menentukan besarnya penurunan serapan. Persentase penurunan absorbansi dihitung dengan membandingkan nilai absorbansi larutan kontrol (tanpa sampel) dan larutan uji (dengan sampel) (Gulcin & Alwaseel, 2023).

7. Penentuan Nilai IC₅₀ Antioksidan

Nilai IC₅₀ merupakan indikator konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang mengakibatkan penurunan DPPH sekitar 50%. Berikut adalah **Tabel 3.2** menurut Itam *et al.* (2021) mengenai pengelompokan nilai IC₅₀ asam askorbat:

Tabel 3.3 Kelompok interpretasi nilai IC₅₀

Nilai IC ₅₀	Kelompok Interpretasi
< 50 µg/ml	sangat kuat
50 - 100 µg/ml	kuat
101- 250 µg/ml	sedang
250 - 500 µg/ml	lemah
> 50 µg/ml	tidak aktif

Jika suatu sampel menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 0%, hal ini menandakan tidak adanya kemampuan antioksidan, sedangkan nilai 100% menunjukkan kemampuan antioksidan yang maksimal atau penurunan oksidasi yang sempurna. Hasil pengukuran kemudian dianalisis menggunakan model regresi, dengan konsentrasi sampel (µg/ml) sebagai sumbu X dan persentase penurunan aktivitas antioksidan sebagai sumbu Y (Alina *et al.*, 2024).

3.7 Analisis Data

Data kadar fenolik total, kadar flavonoid total, kadar tanin total dan aktivitas antioksidan dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dengan uji Saphiro-Wilk. Data terdistribusi normal apabila nilai probabilitas lebih dari 0,05 (Marwinda & Danardono, 2024). Analisis data dilanjutkan untuk melihat apakah terdapat perbedaan kadar total fenolik, total flavonoid, total tanin, dan aktivitas antioksidan antara kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *one-way ANOVA* apabila data terdistribusi normal (Nainggolan, Lestari Hutapea, Fauzia Sirait, Sirait & Sianturi, 2025) dan uji *Kruskal-wallis* apabila data tidak terdistribusi normal (Quraisy & Hasni, 2021).

Analisis data dilanjutkan dengan uji korelasi untuk melihat hubungan antara kadar total fenolik, total flavonoid, total tanin dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan uji Pearson apabila data terdistribusi normal (Jabnabillah & Margina, 2022) sedangkan apabila data tidak terdistribusi normal maka dilakukan dengan uji Spearman (Mustafa, 2022). Nilai uji korelasi yang didapatkan kemudian dikelompokkan menjadi beberapa

kategori seperti pada tabel 3.3 (Itam *et al.*, 2021). Analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan taraf kepercayaan 95% (Anam, 2020). Nilai uji dapat dikelompokkan menjadi berbagai kategori seperti pada **Tabel 3.4** (Schober & Schwarte, 2018).

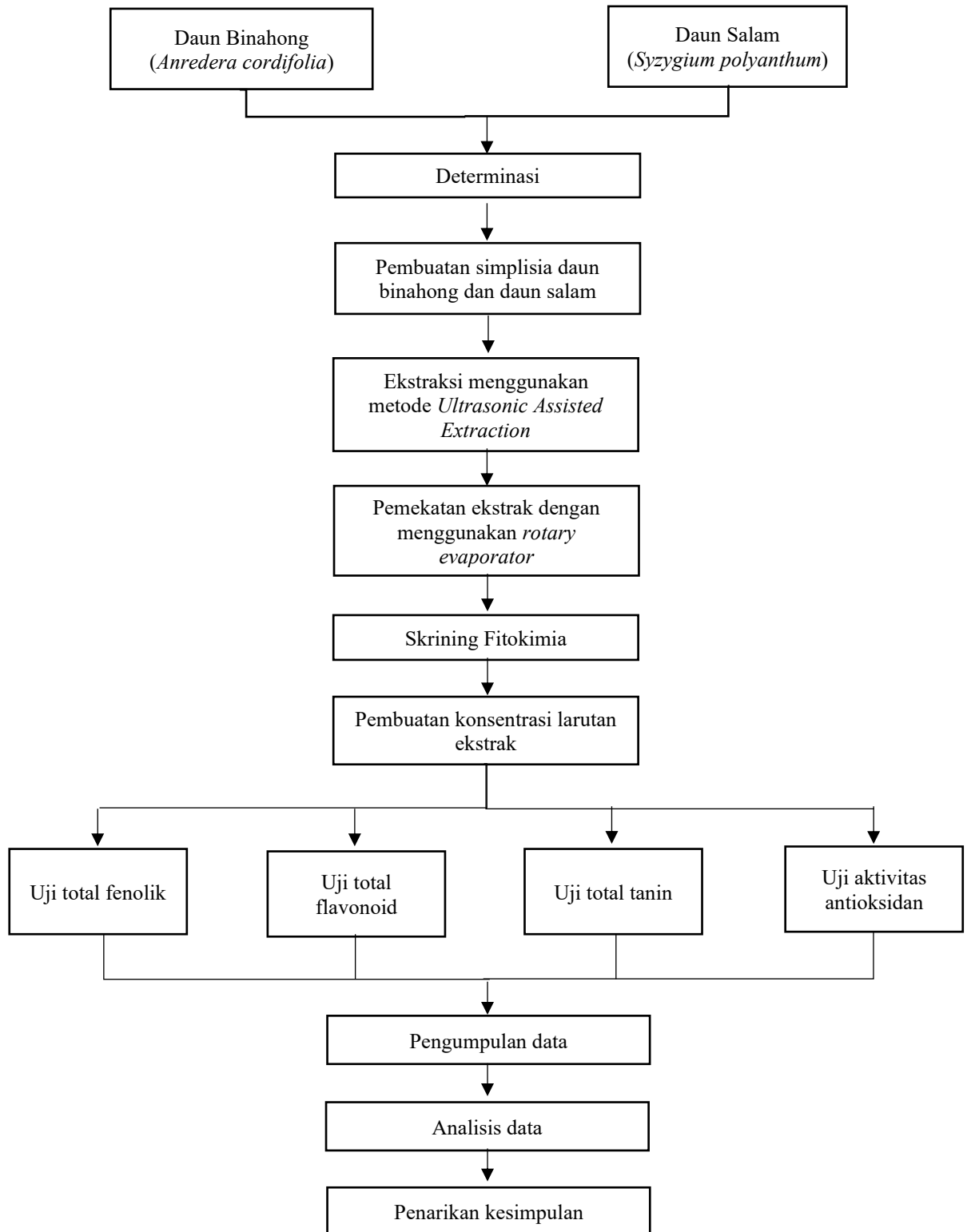
Tabel 3.4 Kelompok nilai koefesien korelasi

Nilai Koefesien Korelasi	Interpretasi
0.00-0.10	Korelasi sangat lemah
0.10-0.39	Korelasi lemah
0.40-0.69	Korelasi sedang
0.70-0.89	Korelasi kuat
0.90-1.00	Korelasi sangat kuat

3.8 Etik Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 5370/UN26.18/PP.05.02.00/2025 sesuai yang terlampir pada **Lampiran 1**.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan sebagai berikut:

5.1.1 Kadar fenolik total tertinggi dari ekstrak etanol 70% dan etil asetat didapatkan pada masing-masing pelarut dengan kombinasi yang sama yaitu 0:2 dengan nilai 746.9 mg GAE/g ekstrak pada ekstrak etanol 70% dan nilai 428.4 mg GAE/g ekstrak pada ekstrak etil asetat. Sedangkan kadar flavonoid total tertinggi dari ekstrak etanol 70% dan etil asetat didapatkan pada masing-masing pelarut dengan kombinasi 1:1 dan 0:2 dengan nilai 348.2 mg QE/g ekstrak pada ekstrak etanol 70% dan nilai 428.4 mg QE/g ekstrak pada ekstrak etil asetat. Lalu pada kadar tanin total tertinggi dari ekstrak etanol 70% dan etil asetat didapatkan pada masing-masing pelarut dengan kombinasi 0:2 dan 1:2 dengan nilai 533.9 mg GAE/g ekstrak pada ekstrak etanol 70% dan nilai 222.533 mg GAE/g ekstrak pada ekstrak etil asetat.

5.1.2 Aktivitas antioksidan yang dinyatakan sebagai nilai IC_{50} pada ekstrak Etanol 70% daun binahong dan daun salam dengan variasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 masing-masing diperoleh sebesar 110.203 $\mu\text{g/ml}$; 82.058 $\mu\text{g/ml}$; 499.072 $\mu\text{g/ml}$; 331.994 $\mu\text{g/ml}$; dan 21.043 $\mu\text{g/ml}$. Sementara itu, pada ekstrak etil asetat dengan perbandingan yang sama, nilai IC_{50} yang dihasilkan berturut-turut adalah 391.533 $\mu\text{g/ml}$; 214.118 $\mu\text{g/ml}$; 275.370 $\mu\text{g/ml}$; 268.857 $\mu\text{g/ml}$; dan 245.850 $\mu\text{g/ml}$.

5.1.3 Berdasarkan hasil analisis statistik, diperoleh hubungan antara kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}), antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}), serta antara kadar tanin total dan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) yang ditunjukkan oleh koefisien korelasi bernilai negatif. Korelasi negatif tersebut mengindikasikan bahwa peningkatan kadar fenolik total, flavonoid total, dan tanin total pada masing-masing ekstrak berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} , sehingga semakin tinggi kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin maka semakin rendah nilai IC_{50} dan semakin tinggi aktivitas antioksidan ekstrak tersebut. Namun demikian, flavonoid pada ekstrak etil asetat menunjukkan korelasi positif terhadap nilai IC_{50} , yang mengindikasikan bahwa peningkatan kadar flavonoid pada ekstrak tersebut tidak diikuti oleh peningkatan aktivitas antioksidan, sehingga flavonoid bukan merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan dari hasil penelitian ini maka saran yang dapat diberikan peneliti adalah sebagai berikut:

- 5.2.1 Perlu dilakukan standarisasi ekstrak untuk menjamin konsistensi dan kualitas bahan uji, sehingga hasil pengujian yang diperoleh menjadi lebih akurat dan lebih baik.
- 5.2.2 Disarankan untuk melakukan variasi perbandingan kombinasi ekstrak yang lebih luas, contoh menggunakan perbandingan 1:3, 1:5, ataupun 1:7 guna menentukan perbandingan optimum yang menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik serta interaksi senyawa yang lebih efektif.
- 5.2.3 Perlu dipertimbangkan penggunaan pelarut yang lain dengan tingkat kepolaran yang berbeda, contoh penggunaan pelarut n-heksan, metanol ataupun kloroform untuk meningkatkan kemampuan penarikan senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, dan tanin,

sehingga diharapkan dapat diperoleh aktivitas antioksidan yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Noor, I., Laili, I., Azizah, N., Dwi, M. & Pebriyanti, O. 2022. Modul Pengolahan Binahong (*Anredera Cordifolia*) Sebagai Produk Herbal Dalam Upaya Penyembuhan Luka Penyusun.
- 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.
- Agustin, A., Widayanti, E., Ikayanti, R., Kesuma, S., Prodi,), Farmasi, A., Makanan, D., Kesehatan, P. & Malang, K. 2022. Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etanol Berbagai Biji Buah Salak Bali (*Salacca Zalanca* Var. *Ambonensis*) Menggunakan Metode Folin Ciocalteu Total Phenolic Content Determination Of Ethanolic Extract From Various Salak Bali Seeds (*Salacca Zalanca* Var. *Ambonensis*) Using The Folin Ciocalteu Method.
- Ahmed, Z., Aziz, S., Hanif, M., Mohiuddin, S.G., Khan, S.H.A., Ahmed, R., Ghadzi, S.M.S. & Bitar, A.N. 2020. Phytochemical Screening And Enzymatic And Antioxidant Activities Of *Erythrina Suberosa* (Roxb) Bark. *Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 12(2): 192–200.
- Ahyani, I.N., Mahbub, F., Kanalung, A.T.P. & Kusumaningtyas, F.A. 2025. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat Dengan Metode Dpph Dan Frap. *Majalah Farmaseutik*, 21(2): 213.
- Aisyah Meisya Putri. 2020a. Perbandingan Aktifitas Antioksidan Terhadap Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus* L.) Dengan Tumbuhan Lainnya. *Journal Of Research And Education Chemistry*, 2(2): 85.
- Aisyah Meisya Putri. 2020b. Perbandingan Aktifitas Antioksidan Terhadap Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus* L.) Dengan Tumbuhan Lainnya. *Journal Of Research And Education Chemistry*, 2(2): 85.
- Alim, N., Hasan, T., Rusman, R., Jasmiadi, J. & Zulfritri, Z. 2022. Phytochemical Screening, Relationship Of Total Phenolic With Antioxidant Activity Of Ethanol And Methanol Extracts Of Kesambi (*Schleichera Oleosa* (Lour.) Oken) Bark. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(2): 118.

- Alina, C., Florescu, G., Stanciulescu, E.C., Berbecaru-Iovan, A., Balasoiu, R.M. & Pisoschi, C.G. 2024. Original Paper In Vitro Assessment Of Free Radical Scavenging Effect And Thermal Protein Denaturation Inhibition Of Bee Venom For An Anti-Inflammatory Use. *Current Health Sciences Journal*, 50(1).
- Allo, I.S., Suryanto, E. & Koleangan, H.S.J. 2022. Aktivitas Antioksidan Fenolik Bebas Dan Terikat Dari Tepung Cangkang Pala (*Myristica Fragrans* Houtt). *Chemistry Progress*, 15(2): 83–92.
- Anam, C. 2020. Jenis Uji Statistik Untuk Analisis Hasil Penelitian.
- Andrés, C.M.C., Pérez De La Lastra, J.M., Andrés Juan, C., Plou, F.J. & Pérez-Lebeña, E. 2023. Superoxide Anion Chemistry—Its Role At The Core Of The Innate Immunity. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(3).
- Anton, N., Yudistira, A., Siampa, P., Studi, P., Fmipa, F. & Manado, U. Antioxidant Activity Test Of Ethanol Extracts Of Sponge *Ianthella Basta* From Tumbak Village Waters Pusomaen District Southeast Regency Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Ianthella Basta* Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen Kabupaten Minahasa Tenggara.
- Anwar, K., Zulfafasya, N., Arifin, I., Farmasi, D.K., Farmasi, F. & Hasyim, W. X(I), Hal.
- Arief, H., Aris, M., Bagian, W., Bedah, I., Kedokteran, F., Wijaya, U., Surabaya, K., Universitas, F.K. & Malang, B. Peranan Stres Oksidatif Pada Proses Penyembuhan Luka.
- Arifin, B., Ibrahim, S., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D. & Alam, P. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1): 21–29.
- Artati, A., Widarti, W., Ali Hasan, Z. & Askar, M. 2024. Aktivitas Antioksidan Dari Tiga Fraksi Pelarut Ekstrak Daun Dandang Gendis (*Eddg*). *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 15(2): 132–139.
- Asif, A., Ahmad, S., Rageeb Md Usman, M., Shaikh, T., Husain, M. & Shaikh, Z. 2021. Antioxidant Activity Of Leaves Solvent Extract Of *Mimusops Elengi* Linn. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 12(4): 2238–2246.
- Asworo, R.Y. & Widwastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Dan Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education*, 3(2).

- Ayu, I. & Widiastuti, E. Stres Oksidatif Yang Diinduksi Oleh Latihan Fisik. *Jurnal Kedokteran Unram*, 2022(4): 1228–1232.
- Ayu Putu Widiastuti, I., Udayani, N.N.W., Putri Triansyah, G.A., Mahita Kumari Dewi, N.P.E., Eva Wulandari, N.L.W. & Sri Prabandari, A.A.S. 2024. Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences And Clinical Research*, 6(2).
- Bastola, K.P., Guragain, Y.N., Bhadriraju, V. & Vadlani, P.V. 2017. Evaluation Of Standards And Interfering Compounds In The Determination Of Phenolics By Folin-Ciocalteu Assay Method For Effective Bioprocessing Of Biomass. *American Journal Of Analytical Chemistry*, 08(06): 416–431.
- Behrendorff, J.B.Y.H., Vickers, C.E., Chrysanthopoulos, P. & Nielsen, L.K. 2016. 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl As A Screening Tool For Recombinant Monoterpene Biosynthesis. *Microbial Cell Factories*, 12(1).
- Benjamaa, R., Elbouny, H., Errati, H., Moujanni, A., Kaushik, N., Gupta, R., Ennibi, O.K., Nasser, B., Choi, E.H., Kaushik, N.K. & Essamadi, A. 2024. Comparative Evaluation Of Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Anti-Inflammatory, And Antibacterial Potential Of Euphorbia-Derived Functional Products. *Frontiers In Pharmacology*, 15.
- Billa Firdaus Tanjung, S., Chatri, M., Studi Biologi, P. & Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, F. Alkaloid: Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan Dan Potensinya Terhadap Pengendalian Penyakit Pada Tanaman.
- Charlton, N.C., Mastuyugin, M., Török, B. & Török, M. 2023. Structural Features Of Small Molecule Antioxidants And Strategic Modifications To Improve Potential Bioactivity. *Molecules*, 28(3).
- Damanis, F.V.M., Wewengkang, D.S. & Antasionasti, I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Antioxidant Activity Test Of Ethanol Extracts Of Ascidian *Herdmania Momus* Using Dpph Method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl).
- Desi, A., Saputri, S., Sa'ad, M., Program,), Diii, S., Sekolah, F., Ilmu, T. & Nasional, K. Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolius*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis.
- Devitria, R., Sepriyani, H. & Sari, S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ciplukan Menggunakan Metode 2,2-Diphenyl 1-Picrilhidrazil (Dpph). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1): 2020.
- Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A. & Silva, A.M.S. 2021. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics And Biological Activity. *Molecules*, 26(17).

- Djakaria, S.A., Batubara, I. & Raffiudin, R. 2020. Antioxidant And Antibacterial Activity Of Selected Indonesian Honey Against Bacteria Of Acne. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 23(8): 267–275.
- Dubale, S., Kebebe, D., Zeynudin, A., Abdissa, N. & Suleman, S. 2023. Phytochemical Screening And Antimicrobial Activity Evaluation Of Selected Medicinal Plants In Ethiopia. *Journal Of Experimental Pharmacology*, 15: 51–62.
- Elshafie, H.S., Camele, I. & Mohamed, A.A. 2023. A Comprehensive Review On The Biological, Agricultural And Pharmaceutical Properties Of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(4).
- Elufioye, T.O., Olusola, D.M. & Oyedeji, A.O. 2019. Correlation Of Total Phenolic, Flavonoid And Tannin Content Of *Bryophyllum Pinnatum* (Lam.) (Crassulaceae) Extract With The Antioxidant And Anticholinesterase Activities. *Pharmacognosy Journal*, 11(5): 1003–1009.
- Fachriyah, E., Ismiyarto, I. & Sarjono, P.R. 2024. Determination Of Total Phenolics And Flavonoids Content And Test Of Antioxidant Activity Of Mango Leaves Honey Cultivar (*Mangifera Indica* L. Cv. Honey). *Jurnal Penelitian Saintek*, 1(2).
- Fadhlillah, F.M., Miranti, M., Wibowo, D.P. & Purkon, D.B. 2024. Determination Of Phenolic And Flavonoid Total Levels And Antioxidant Activity Of Ethanol, Ethyl Acetate, And N-Hexane Extracts Of *Citrus Reticulata* Blanco Fruit Peel By Dpph And Abts Methods. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, 10(2).
- Fadilla, A., Zahra, F., Shalsabila, N. & Na, N. Studi Literatur : Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*), Bumbu Dapur Dengan Banyak Khasiat Pengobatan.
- Fairus Izza, A.R. & Adrianto, D. 2024. Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) Sebagai Sabun Padat. *Indonesian Journal Of Health Science*, 4(4): 307–314.
- Falgueras Vallbona, B., Kajtazi, A., Shahtahmassebi, G. & Hanley, Q.S. 2025. Raw Data And Noise In Spectrophotometry. *Analytica Chimica Acta*, 1333.
- Farabi, K., Harneti, D., Nurlelasari, N., Mayanti, T., Maharani, R. & Supratman, U. 2023. Isolation, Structure Determination, And Cytotoxic Activity Of Steroid Compound From The Stem Bark Of *Aglaia Cucullata* (Meliaceae). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 26(6): 217–223.
- Farmasi, J. & Farmakoinformatika, D. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus Scutellarioides*

(L.) Benth.) Antioxidant Activity Test And Determination Of Total Flavonoid Rate In Ethanol Extract Of Iler Leaves (*Coleus Scutellarioides* (L.) Benth.).

- Febrianto, Y., Chakim, A. & Farmasi Nusaputera Semarang, A. 2019. Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (Uae) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif Dari Bahan Alam.
- Fernandes, P.A.R. & Coimbra, M.A. 2023. The Antioxidant Activity Of Polysaccharides: A Structure-Function Relationship Overview. *Carbohydrate Polymers*, 314.
- Firdausia, R.S., Pratama, N.P., Kurniawati, E., Ervany, I., Wibisono, D.I., Rikhaturohmah, R. & Ardianto, L.S. 2025. Optimasi Waktu Ekstraksi Dengan Metode Ultrasound Assisted Extraction (Uae) Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Fenolik Daun Kayu Bulan (*Pisonia Alba* Span.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 11(1): 274–280.
- Fraga-Corral, M., Otero, P., Cassani, L., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Chamorro, F., Lourenço-Lopes, C., Prieto, M.A. & Simal-Gandara, J. 2021. Traditional Applications Of Tannin Rich Extracts Supported By Scientific Data: Chemical Composition, Bioavailability And Bioaccessibility. *Foods*, 10(2).
- González-Morales, D., Valencia, A., Díaz-Núñez, A., Fuentes-Estrada, M., López-Santos, O. & García-Beltrán, O. 2020. Development Of A Low-Cost Uv-Vis Spectrophotometer And Its Application For The Detection Of Mercuric Ions Assisted By Chemosensors. *Sensors (Switzerland)*, 20(3).
- Gulcin, İ. & Alwasel, S.H. 2023. Dpph Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8).
- Hao, J., Wang, Z., Jia, Y., Sun, L., Fu, Z., Zhao, M., Li, Y., Yuan, N., Cong, B., Zhao, L. & Ge, G. 2023. Optimization Of Ultrasonic-Assisted Extraction Of Flavonoids From *Lactuca Indica* L. Cv. Mengzao And Their Antioxidant Properties. *Frontiers In Nutrition*, 10.
- Haresmita, P.P. & Pradani, M.P.K. 2022. Determination Of Total Flavonoid In Jamu “X” With Uv-Visible Spectrophotometric Methods. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*: 177–184.
- Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, F., Nuzul Ramadhani, F. & Ibrahim, A.S. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl (Dpph). *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education*, 2(1): 67–73.
- Hasanah, N. & Novian, D.R. Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* D.).

- Hersila, N., Chatrri, M., Biologi, J., Matematika, F. & Pengetahuan, I. Jurnal Embrio (15) (1) (16-22) 2023 Senyawa Metabolit Sekunder (Tanin) Pada Tanaman Sebagai Antifungi Secondary Metabolite Compounds (Tannins) In Plants As Antifungi.
- Hikmah, N., Trinovitasari, N., Anwar, I., Handoyo Sahumena, M., Yamin, Y., Ramadhan Tumada, W.O.S. & Khairul Ikram, N.K. 2025. Chemometric Evaluation Of Antioxidant Activity In Libo Fruit Extracts: Correlation With Phenolic And Flavonoid Content. Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education, 5(2): 213–229.
- 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. In Journal Of Physics: Conference Series. Iop Publishing Ltd.
- Huda, B.H., Susanti, H. & Sugihartini, N. Purification Effect On Organoleptic Profile, Yield, Total Phenol And Total Flavonoids From 96% Ethanol Extract Of Moringa (*Moringa Oleifera*. L) Leaves. Jurnal Farmasi Indonesia, 17(2).
- Ilmu, J., Pangan, T., Andriani, M., Gde, D., Permana, M., Rai Widarta, W., Program, M., Ilmu, S., Pertanian, T., Udayana, U., Program, D., Kampus, U., Jimbaran, B. & -Bali, B. 2019. The Effect Of Time And Temperature Extraction On Antioxidant Activity Of Starfruit Wuluh Leaf (*Averrhoa Bilimbi* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction (Uae) Method. , 8(3): 330–340.
- Iranawati, F., Oktavia, Y., Kasitowati, R., Kartikaningsih, H., Harlyan, L.I. & Arifin, S. 2024. An Assessment Of Polar Solvent Extraction On Free Scavenging Activity Of *Sonneratia Caseolaris*. Life Sci, 14(2).
- Itam, A., Wati, M.S., Agustin, V., Sabri, N., Jumanah, R.A. & Efdi, M. 2021. Comparative Study Of Phytochemical, Antioxidant, And Cytotoxic Activities And Phenolic Content Of *Syzygium Aqueum* (Burm. F. Alston F.) Extracts Growing In West Sumatera Indonesia. Scientific World Journal, 2021.
- Jabnabillah, F. & Margina, N. 2022. Analisis Korelasi Pearson Dalam Menentukan Hubungan Antara Motivasi Belajar Dengan Kemandirian Belajar Pada Pembelajaran Daring.
- Jakubowska, Z., Gradowski, M. & Dobrzyński, J. 2025. Role Of Plant Growth-Promoting Bacteria (Pgp) In Enhancing Phenolic Compounds Biosynthesis And Its Relevance To Abiotic Stress Tolerance In Plants: A Review. Antonie Van Leeuwenhoek, International Journal Of General And Molecular Microbiology, 118(9).
- Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K. & Komaram, R.B. 2019. Preliminary Analysis Of Phytoconstituents And Evaluation Of Anthelmintic

- Property Of *Cayratia Auriculata* (In Vitro). *Maedica - A Journal Of Clinical Medicine*, 14(4).
- Kanggaran, W., Indrianto Bangar Siagian, R. & Dharmawan Syahputra, H. 2025. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode Dpph.
- 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.
- Kesehatan Masyarakat Seroja Husada, J., Studi D-, P., Stikes Nauli Husada Jl Kader Manik No, K., Muara Pinang, A. & Selatan, S. 2024. Review: Potensi Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Antidiabetes Mellitus Revi Maylina Tanjung. , 1(5): 213–225.
- Klau, M.H.C. & Hesturini, R.J. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1): 6–12.
- Kristina Gultom, D., Saraswati, I. & Sasikirana, W. 2021. Determination Of Total Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Ethyl Acetate Fraction Extract Ethanolic Red Cabbage (*Brassica Oleracea* Var. *Capitata* L).
- Lazar, T. 2003. Taiz, L. And Zeiger, E. *Plant Physiology*. 3rd Edn. *Annals Of Botany*, 91(6): 750–751.
- Lee, H., Cho, S., Lim, J., Lee, A., Kim, G., Song, D.J., Chun, S.W., Kim, M.J. & Mo, C. 2023. Performance Comparison Of Tungsten-Halogen Light And Phosphor-Converted Nir Led In Soluble Solid Content Estimation Of Apple. *Sensors*, 23(4).
- Lemmadi, S., Adoui, F., Dumas, E., Karoune, S., Santerre, C. & Gharsallaoui, A. 2025. Optimization Of Ultrasound-Assisted Extraction Of Phenolic Compounds From The Aerial Part Of Plants In The *Chenopodiaceae* Family Using A Box–Behnken Design. *Applied Sciences* (Switzerland), 15(9).
- Luna, V. Da S., Randau, K.P., Ferreira, M.R.A. & Soares, L.A.L. 2022. Development And Validation Of Analytical Method By Spectrophotometry Uv-Vis For Quantification Of Flavonoids In Leaves Of *Senna Occidentalis* Link. *Research, Society And Development*, 11(1): E14411118584.
- Lyngsie, G., Krumina, L., Tunlid, A. & Persson, P. 2018. Generation Of Hydroxyl Radicals From Reactions Between A Dimethoxyhydroquinone And Iron Oxide Nanoparticles. *Scientific Reports*, 8(1).

- Mahboubi, M., Kazempour, N. & Boland Nazar, A.R. 2013. Pharmaceutical Products Total Phenolic, Total Flavonoids, Antioxidant And Antimicrobial Activities Of *Scrophularia Striata* Boiss Extracts.
- Mailuhu, M., Runtuwene, M.R.J. & Koleangan, H.S.J. 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia Bracteosa* Dc). *Chem. Prog*, 10(1).
- Al Mamari, H.H. Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, And Updated Techniques Of Analysis And Synthesis.
- Marwinda, T.D.N. & Danardono, D. 2024. Perbandingan Iuran Normal Pensiun Metode Entry Age Normal Dan Projected Unit Credit Dengan Suku Bunga Cir (Cox Ingersoll Ross). *Jurnal Pembelajaran Dan Matematika Sigma (Jpms)*, 10(2): 133–138.
- Masykuroh, A., Khalifatul Ummah Prodi Diii Farmasi, U., Farmasi Yarsi Pontianak Jl Panglima, A.A. & No, Im. Bioma : Jurnal Biologi Makassar Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Bunga Pulutan (*Urena Lobata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Determination Of Total Flavonoid Content Of Ethanolic Extract Of *Urena Lobata* L. Flower Using Uv-Vis Spectrophotometry.
- Mustafa, P.S. Tinjauan Literatur Analisis Uji R Berganda Dan Uji Lanjut Dalam Statistik Inferensial Pada Penelitian Pendidikan Jasmani. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 2023(5): 571–593.
- Nainggolan, Y., Lestari Hutapea, D., Fauzia Sirait, W., Sirait, M. & Sianturi, R. 2025. Anava Satu Jalur (One Way-*Annova*). *Journal Of Social Science Research*, 5: 5670–5682.
- Najjar-Tabrizi, R., Javadi, A., Sharifan, A., Chew, K.W., Lay, C.H., Show, P.L., Jafarizadeh-Malmiri, H. & Berenjian, A. 2020. Hydrothermally Extraction Of Saponin From *Acanthophyllum Glandulosum* Root – Physico-Chemical Characteristics And Antibacterial Activity Evaluation. *Biotechnology Reports*, 27.
- Nirmal, N., Andrés, A.I., Dubey, N., Julizan, N., Ishmayana, S., Zainuddin, A., Van Hung, P. & Kurnia, D. 2023. Potential Of *Syzygnium Polyanthum* As Natural Food Preservative: A Review.
- Noer, S., Pratiwi, R.D. & Gresinta, E. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid) Sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta Angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, 18(1): 19–29.
- Nola, F., Putri, G.K., Malik, L.H. & Andriani, N. 2021. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid Dan Terpenoid Dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*, 3(7): 1612.

- Nuraini Hasmar, W., Herowati, R. & Pamudji, G. Perbaikan Stres Oksidatif Ekstrak Etanol Dan Fraksi Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Pada Tikus Yang Diinduksi Streptozotocin-Nikotinamid Repairing Of Oxidative Stress With Ethanol Extract And Clove (*Syzygium Aromaticum* L.) Fractions In Streptozotocin-Nicotinamide Induced Rats.
- Nurjannah, I., Mustariani, B.A.A. & Suryani, N. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Dan Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. *Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1): 23–36.
- Nurkhasanah, T.A. & Dhurhanian, C.E. 2023. Analisis Kadar Saponin Pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Secara Gravimetri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(2): 300–309.
- Oktavia, D., Humaedi, A., Halimatushadyah, E., Umar, A.T., Kurniawan, F., Azzara, F., Wulandari, J., Aditama, S.G. & Auliya, W. 2025. Penyuluhan Penyakit Degeneratif Serta Pemanfaatan Tanaman Obat Pada Masyarakat Kampung Barokaso, Desa Sukamulya, Kecamatan Cugenang, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. *Jurnal Mandala Pengabdian Masyarakat*, 6(1): 110–120.
- Pangan, J., Gizi, D., Pratama, A.W., Lestari, R., Gofur, A., Rakhmawati, Y., Biologi, D., Matematika, F., Ilmu, D. & Alam, P. 2022. Skrining Fitokimia, Total Fenol, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tangkai Sisir Buah Pisang Agung Phytochemical Screening, Total Phenol, And Antioxidant Activity Of Methanol Extract Of The Agung Banana Bunch Stem. , 12(2): 14–21.
- Pengetahuan Tentang Penyakit Degeneratif Pada Masyarakat Petani Desa Laliko Sulawesi, P., Alang, H. & Sri Yusal, M. 2022. Kreativasi Journal Of Community Empowerment. *Journal Of Community Empowerment*, 1(2): 2022.
- Pereira, G.A., Arruda, H.S. & Pastore, G.M. Modification And Validation Of Folin-Ciocalteu Assay For Faster And Safer Analysis Of Total Phenolic Content In Food Samples Abstract.
- Pérez, M., Dominguez-López, I. & Lamuela-Raventós, R.M. 2023. The Chemistry Behind The Folin-Ciocalteu Method For The Estimation Of (Poly)Phenol Content In Food: Total Phenolic Intake In A Mediterranean Dietary Pattern. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(46): 17543–17553.
- Politi, F.A.S., De Mello, J.C.P., Migliato, K.F., Nepomuceno, A.L.A., Moreira, R.R.D. & Pietro, R.C.L.R. 2011. Antimicrobial, Cytotoxic And Antioxidant Activities And Determination Of The Total Tannin Content Of Bark Extracts *Endopleura Uchi*. *International Journal Of Molecular Sciences*, 12(4): 2757–2768.

- Pramiastuti, O., Anggia Zen, D., Aji Prastiyo, B., Studi, P.S. & Stikes Bhamada Slawi, F. 2018. Penetapan Kadar Total Fenolik Dan Uji Aktivitas antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidazil (Dpph).
- Pudica Linn Menggunakan Metode Dpph Wulan, M., Yudistira, A. & Rotinsulu, H. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun.
- Purwaningsih, H., Nababan, R.C. & Firmansyah, Y.W. 2025. Eksplorasi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) Batang Hijau Dan Merah: Studi Organoleptik, Mikroskopis Dan Skrining Fitokimia. , X(2).
- Puspa Anjani, T., Jurusan Akuakultur, A., Perikanan Dan Ilmu Kelautan, F., Diponegoro, U., Akuakultur, J., Pertanian, F., Biologi, Dan & Bangka Belitung, U. Skrining Fitokimia Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Dari Kabupaten Semarang Yang Diekstrak Menggunakan Pelarut Air Phytochemical Screening Of Binahong Leaves (*Anredera Cordifolia*) From Semarang Regency Extracted Using Water Solvent.
- Puspa Yani, N.K.L., Nastiti, K. & Noval, N. 2023. Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.). Jurnal Surya Medika, 9(1): 34–44.
- Putri, W.) S., Warditiani, N.K., Larasanty, L.P.F. & Putri, W.S. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.).
- Putri, Y.A., Muharini, R., Lestari, I., Masriani, M., Rudiyanasyah, R. & Ola, A.R.B. 2024. Profil Kandungan Kimia, Fenolik Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Litsea Firma* (Blume) Hook F. Alchemy Jurnal Penelitian Kimia, 20(1): 38.
- Putu, P., Ardhaneswari, N., Wayan, I. & Suwitra, C. Analisis Korelasi Pearson Dalam Menentukan Hubungan Harga Dengan Volume Penjualan Wardah Matte Lip Cream Pada Platform E-Commerce Shopee.
- Quraissy, A. & Hasni, N. 2021. Analisis Kruskal-Wallis Terhadap Kemampuan Numerik Siswa. Variansi: Journal Of Statistics And Its Application On Teaching And Research, 3(3): 156–161.
- Rahimah, S.B., Djunaedi, D.D., Soeroto, A.Y. & Bisri, T. 2019. The Phytochemical Screening, Total Phenolic Contents And Antioxidant Activities In Vitro Of White Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) Preparations. Open Access Macedonian Journal Of Medical Sciences, 7(15): 2404–2412.
- Rahmah, M.H., Nurfila, N. & Sari, A.P. 2022. Total Phenol And Total Flavonoid Of Graded Fractination Fresh And Dried *Muntingia Calabura* Extract: A

Sustainable Immunomodulator Bioagent For Functional Health Drink. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 8(3): 767–780.

- Rather, J.A., Akhter, N., Ashraf, Q.S., Mir, S.A., Makroo, H.A., Majid, D., Barba, F.J., Khaneghah, A.M. & Dar, B.N. 2022. A Comprehensive Review On Gelatin: Understanding Impact Of The Sources, Extraction Methods, And Modifications On Potential Packaging Applications. *Food Packaging And Shelf Life*, 34.
- Ríos-Reina, R. & Azcarate, S.M. 2023. How Chemometrics Revives The Uv-Vis Spectroscopy Applications As An Analytical Sensor For Spectralprint (Nontargeted) Analysis. *Chemosensors*, 11(1).
- Rivai, H., Heriadi, A. & Fadhillah, H. 2015. Pembuatan Dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Farmasi Higea*, 7(1): 54–62.
- Rizvi, N.B., Fatima, A., Busquets, R., Khan, M.R., Ashraf, S., Khan, M.S. & Oz, F. 2023a. Effect Of The Media In The Folin-Ciocalteu Assay For The Analysis Of The Total Phenolic Content Of Olive Products. *Food Analytical Methods*, 16(11–12): 1627–1634.
- Rizvi, N.B., Fatima, A., Busquets, R., Khan, M.R., Ashraf, S., Khan, M.S. & Oz, F. 2023b. Effect Of The Media In The Folin-Ciocalteu Assay For The Analysis Of The Total Phenolic Content Of Olive Products. *Food Analytical Methods*, 16(11–12): 1627–1634.
- Rudiana, T. & Danang Indriatmoko, D. 2020. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dan Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Original Article Mff*, 25(1): 20–22.
- Rustaman, R., Janitra, R.S., Azzahra, A.F., Maulana, F.A., Rohmatulloh, F.G., Destiarani, W., Hardianto, A., Yusuf, M. & Maksum, I.P. 2023. Studi Potensi Senyawa Antioksidan Dari Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Secara In Silico. *Chimica Et Natura Acta*, 11(3): 136–142.
- Safithri, M., Nur Faridah, D., Ramadani, F. & Pratama, R. 2022. Antioxidant Activity Of Ethanol Extract And Fractions Of Piper Crocatum With Rancimat And Cuprac Methods. *Turkish Journal Of Biochemistry*, 47(6): 795–801.
- Safutri, W., Karim, D.D.A. & Fevinia, M. 2022. Skrining Fitokimia Simplisia Di Kabupaten Pringsewu. *Jurnal Farmasi Universitas Aisyah Pringsewu*, 1(1): 23–27.
- Sam, S., Malik, A. & Handayani, S. Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.

- Sankhalkar, S. & Vernekar, V. 2016. Quantitative And Qualitative Analysis Of Phenolic And Flavonoid Content In *Moringa Oleifera* Lam And *Ocimum Tenuiflorum* L. *Pharmacognosy Research*, 8(1): 16–21.
- Sari, K.R.P., Ikawati, Z., Danarti, R. & Hertiani, T. 2023. Micro-Titer Plate Assay For Measurement Of Total Phenolic And Total Flavonoid Contents In Medicinal Plant Extracts. *Arabian Journal Of Chemistry*, 16(9).
- Schober, P. & Schwarte, L.A. 2018. Correlation Coefficients: Appropriate Use And Interpretation. *Anesthesia And Analgesia*, 126(5): 1763–1768.
- 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.
- Setiabudi, A., Pringgenies, D. & Ridlo, A. 2020. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dpph Dan Daya Reduksi Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*. *Jrst (Jurnal Riset Sains Dan Teknologi)*, 4(2): 47.
- Setiawan, F., Yunita, O. & Kurniawan, A. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) Menggunakan Metode Dpph, Abts, Dan Frap.
- Setiawansyah, A. & Pandapotan Marpaung, M. Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Sygium Polyanthum*).
- Setyawati, T., Riska Putrie, I., Marina Walanda, R., Oktafiani, D., Rabia, S., Zahid, Ah, Khofifah Indah Saleh, A. & Baldan Esa, Its. Pemahaman Penyakit Degeneratif Pada Masyarakat Di Kelurahan Talise ‘Understanding Degenerative Diseases In The Community In Talise Village’. , 7(8).
- Seulina Panjaitan, R. & Meze, M.F. Variations Of Extraction Methods, Phytochemical Screening, And Toxicity Test Of Methanol *Eucheuma Cottonii* Extract (Variasi Metode Ekstraksi, Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Metanol *Eucheuma Cottonii*).
- Sharen Salikode, J., Yudistira, A., Amalia Hariyanto, Y., Studi Farmasi, P., Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, F. & Sam Ratulangi, U. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Aaptos Aaptos* Yang Diperoleh Dari Pantai Selatan Kabupaten Minahasa.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H. & Ren, X. 2023. A Comprehensive Review Of Ultrasonic Assisted Extraction (Uae) For Bioactive Components: Principles, Advantages, Equipment, And Combined Technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101.
- Sibua, P., Simbala, H.E.I., Datu, S., Studi, P., Fmipa, F. & Manado, U. Antioxidant Activity Test Of Pinang Yaki (*Areca Vestitaria*) Leaf Extract Using The Dpph

(1,1-Diphenyl-2-Picryldrazyl) Method Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pinang Yaki (Areca Vestitaria) Dengan Menggunakan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil).

- Singh, T., Pandey, V.K., Singh, R., Dash, K.K., Kovács, B. & Mukarram, S.A. 2024. Ultrasound Assisted Extraction Of Phytochemicals From Piper Betel L. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106.
- Siregar, M., Lubis, M.S., Yuniarti, R. & Rani, Z. 2020. Journal Of Pharmaceutical And Sciences Formulation, Evaluation And Antioxidant Activity Of Used Nano Tea Bags Solid Soap Formulasi, Evaluasi Dan Aktivitas Antioksidan Sabun Padat Serbuk Nano Teh Celup Bekas. *Jps*, 2025(4): 2641–2661.
- Sıdır, Y.G. & Sıdır, İ. 2025. The Optical Properties, Uv-Vis. Absorption And Fluorescence Spectra Of 4-Pentylphenyl 4-N-Benzoate Derivatives In Different Solvents. *Journal Of Fluorescence*.
- Smajić Bečić, A., Cvrk, R., Kusur, A., Junuzović, H. & Brčina, T. 2023. Comparative Analysis Of The Antioxidant Capacity Of Some Natural And Synthetic Antioxidants Added To Palm Oil. *Technologica Acta*, 15(2): 19–23.
- Souhoka, F.A., Kapelle, I.B.D. & Sihasale, E. 2021a. Phytochemical And Antioxidant Test Of Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) Leaves Ethanol Extract. *Fullerene Journal Of Chemistry*, 6(1): 28.
- Souhoka, F.A., Kapelle, I.B.D. & Sihasale, E. 2021b. Phytochemical And Antioxidant Test Of Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) Leaves Ethanol Extract. *Fullerene Journal Of Chemistry*, 6(1): 28.
- Studi Farmasi, P. & Kesehatan, F. Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca Catechu L.) Menggunakan Metode Alcl₃ Total Flavonoid Content Of Pinang Seed Extract (Areca Catechu L) Using Alcl₃ Method Agitya Resti Erwiyani (1) , Dina Sihot Rejeki Gultom (2) , Dian Oktianti (3) (1)(2)(3).
- Subagyo, Y., Ifani, M., Widodo, H.S. & Yusan, R.T. 2024. The Comparison Of Tannin Fractions In Calliandra Calothyrsus Leaves Utilizing Butanol-Hcl₄ And Protein-Precipitation Methods. *Molekul*, 19(2): 209–216.
- Suhaenah, A., Muflihunna, A. & Renhoran, A.A. Penentuan Kadar Tanin Pada Ekstrak Etanol Daun Karet Kebo (Ficus Elastica Roxb. Ex Hornem) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 2024(2): 2024–427.
- Sulaiman Dadiono, M., Sri Andayani, Dan, Studi Akuakultur, P., Perikanan Dan Ilmu Kelautan, F. & Brawijaya, U. 2022. Potensi Tanaman Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat Alternatif Pada Bidang Akuakultur. *Jurnal Perikanan Pantura (Jpp)*, 5(1).

- Suprijono, A. & Hesti Wulan, A.S. 2022. International Journal Of Life Science And Agriculture Research Antioxidant Activity Test Combination Sarang Semut Extract (*Myrmecodia Pendans*) And Rosella Flower Extract (*Hibiscus Sabdariffa* L.) With Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Method..
- Syahputra, H. 2024. Phytochemical Screening And Determination Of Phenolic And Flavonoid Contents In Ethanol Extract Of *Phyllanthus Emblica* L. Fruit. Indonesian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research, 7(2): 70–77.
- Tandi1, J. 2023. Hepatoprotective Activity Of Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaf Extract In Diabetes Mellitus Rats.
- Tian, C., Liu, X., Chang, Y., Wang, R., Lv, T., Cui, C. & Liu, M. 2021. Investigation Of The Anti-Inflammatory And Antioxidant Activities Of Luteolin, Kaempferol, Apigenin And Quercetin. South African Journal Of Botany, 137: 257–264.
- Tourabi, M., Faiz, K., Ezzouggari, R., Louasté, B., Merzouki, M., Daelbait, M., Bourhia, M., Almaary, K.S., Siddique, F., Lyoussi, B. & Derwich, E. 2025. Optimization Of Extraction Process And Solvent Polarities To Enhance The Recovery Of Phytochemical Compounds, Nutritional Content, And Biofunctional Properties Of *Mentha Longifolia* L. Extracts. Bioresources And Bioprocessing, 12(1).
- Triyanti, S.B., Lestari, F.P., Fitriana, P.A.N., Rostiana, H.R., Silalahi, D.D., Syalsabina, T.D., Putri, R.Y. & Saputra, I.S. 2025. Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi, Sonikasi, Dan Sokletasi Terhadap Nilai Rendemen Sampel Kulit Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*). Jurnal Sains Dan Edukasi Sains, 8(1): 71–78.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C. & Bezirtzoglou, E. 2022. Interactions Between Medical Plant-Derived Bioactive Compounds: Focus On Antimicrobial Combination Effects. Antibiotics, 11(8).
- Vita Marlina Kristina, C., Yusasrini, N. & Made Yusa, N. Online) Clara Vita Marlina Kristina Dkk.
- Wahyudi, W., Ananda Pulungan, D.R., Syahfitri, D., Adelia, D. & Salsabila, R.F. 2024. Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Rempah Khas Indonesia Dengan Berbagai Manfaat Farmakologi: Literature Review. Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education, 4(3).
- Wardatun, S., Mahyuni, S. & Mulyani, J.S. 2024a. The Effect Of Ethanol Polarities On Tannin Content Of *Persea Americana* Mill Seeds Extract Using Gelatin Precipitation Method. Helium: Journal Of Science And Applied Chemistry, 4(2): 72–77.

- Weroy Karundeng, G., Simbala, H.E. & Jayanto, I. Identifikasi Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode 1.1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (Dpph), Dan Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (*Areca Vestitaria* Giseke).
- Wowor, M.G.G., Tampara, J., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Masker Peel-Off Ekstrak Etanol Daun Kalu Burung (*Barleria Prionitis* L.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(1): 75.
- Xu, L. & Wang, X. 2025. A Comprehensive Review Of Phenolic Compounds In Horticultural Plants. *International Journal Of Molecular Sciences*, 26(12).
- Yahya, M.A. & Nurrosyidah, I.H. 2020. Antioxidant Activity Ethanol Extract Of Gotu Kola (*Centella Asiatica* (L.) Urban) With Dpph Method (2,2-Diphenyl-1-Pikrilhidrazil). *Journal Of Halal Product And Research*, 3(2): 106.
- Zahari, N.A.A.R., Chong, G.H., Abdullah, L.C. & Chua, B.L. 2020. Ultrasonic-Assisted Extraction (Uae) Process On Thymol Concentration From *Plectranthus Amboinicus* Leaves: Kinetic Modeling And Optimization. *Processes*, 8(3).
- Zhang, L., Guan, Q., Zhang, H. & Tang, L. 2023. Effect Of Metal Ions On The Interaction Of Condensed Tannins With Protein. *Foods*, 12(4).