

**IDENTIFIKASI PROFIL FITOKIMIA, AKTIVITAS
ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*):
STUDI *IN-VITRO***

(Skripsi)

Oleh

**Athaya Aulia Rannisa
2218031034**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**IDENTIFIKASI PROFIL FITOKIMIA, AKTIVITAS
ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK DAUN
BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*): STUDI *IN-VITRO***

Oleh

**Athaya Aulia Rannisa
2218031034**

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

**Jurusan Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi

: IDENTIFIKASI PROFIL FITOKIMIA,
AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI
EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera*
cordifolia) DAN DAUN SALAM (*Syzygium*
polyanthum): STUDI *IN-VITRO*

Nama Mahasiswa

: Athaya Aulia Ramnisa

No. Pokok Mahasiswa

: 2218031034

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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


apt. Muhammad Fitra Wardhana S,
S.Farm., M.Farm
NIP. 19880519202311014

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 19760120200312200

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

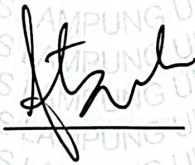
Ketua

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



Sekretaris

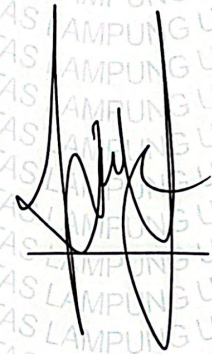
: apt. Muhammad Fitra Wardhana S, S.Farm.,
M.Farm



Penguji

Bukan Pembimbing

: apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc.

NIP. 197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 28 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Athaya Aulia Rannisa

NPM : 2218031034

Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI PROFIL FITOKIMIA, AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*): STUDI IN-VITRO**

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, 20 Februari 2026

Mahasiswa,



Athaya Aulia Rannisa

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Athaya Aulia Rannisa, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 23 Maret 2004. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Juliantoni dan Ibu Reni Erlianti, serta memiliki satu adik perempuan dan satu adik laki-laki.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) Taruna Jaya pada tahun 2009, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 2 Sumberejo pada tahun 2011 dan lulus pada tahun 2017. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 10 Bandar Lampung dari tahun 2017 hingga 2020. Pada tahun 2020, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA S YP Unila Bandar Lampung.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2022. Penulis bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) dan menjabat sebagai Wakil Kepala Departemen Media and Design (MnD) pada tahun 2025. Penulis juga tergabung dalam organisasi Lampung University Medical Research (LUNAR) serta aktif mengikuti berbagai kegiatan dan kepanitiaan di kampus seperti Pharmalation dan Mesenterica.

Penulis merasa bersyukur atas kesempatan yang telah diberikan untuk menempuh pendidikan tinggi dan mendapatkan berbagai pengalaman berharga. Setelah melalui proses yang panjang dan penuh tantangan, penulis berhasil menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Identifikasi Profil Fitokimia, Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*): Studi *In-Vitro*”.

لَا الشَّمْسُ يَنْبَغِي لَهَا أَنْ تُدْرِكَ الْقَمَرَ وَلَا اللَّيْلُ سَابِقُ
النَّهَارِ كُلُّ فِي فَلَكٍ يَسْبَحُون

"Tidaklah mungkin bagi matahari mengejar bulan dan malam pun tidak dapat mendahului siang. Masing-masing beredar pada garis edarnya."

[Q.S. Yasin: 40]

Persembahan sederhana untuk
Ibu, Ayah, Adik,
dan semua orang yang saya sayangi

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis diberikan kekuatan dan kelancaran dalam menempuh perkuliahan, melaksanakan penelitian, serta menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Profil Fitokimia, Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*): Studi *In-Vitro*”.

Penulis menyadari bahwa tersusunnya skripsi ini tidak lepas dari doa, bimbingan, serta dukungan berbagai pihak. Dalam proses penyusunan, masih terdapat keterbatasan dan kekurangan yang menjadi bahan pembelajaran bagi penulis. Oleh karena itu, dengan penuh rasa hormat, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, arahan, serta doa, khususnya 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, S.Farm., M.S.Farm., selaku Pembimbing I, yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan semangat kepada penulis sejak awal penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian, hingga terselesaikannya skripsi ini. Berbagai ilmu, arahan, motivasi, yang diberikan menjadi bekal berharga bagi penulis dalam menyelesaikan setiap tahapan dengan baik;
5. apt. Muhammad Fitra Wardhana S, S.Farm., M.Farm., selaku Pembimbing II, yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan

bimbingan, arahan, serta berbagai masukan yang membangun kepada penulis sejak penyusunan proposal hingga selesainya skripsi ini;

6. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si., selaku Pembahas Skripsi, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, saran, serta kritik yang membangun terhadap skripsi ini. Segala arahan yang diberikan menjadi bahan perbaikan yang sangat berharga bagi penulis;
7. apt. Ervina Damayanti, S.Farm., M.Clin., Pharm, 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. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc., selaku Kepala Laboratorium Kimia Farmasi Analisis, serta kepada apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si., selaku Kepala Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Formulasi, atas izin, fasilitas, serta arahan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian sehingga seluruh rangkaian penelitian dapat berjalan dengan baik dan lancar;
9. Mba Afrita dan Mba Amel selaku laboran, serta Kak Fredison atas bantuan dan pendampingan yang diberikan kepada penulis selama kegiatan penelitian di laboratorium;
10. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan, yang sangat membantu dalam proses penyusunan skripsi ini;
11. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam berbagai proses administrasi serta menyiapkan penyusunan skripsi ini;
12. Ibu tercinta (Reni Erlianti), atas cinta yang tak pernah lelah, doa yang tak pernah putus, serta ketulusan dalam mendampingi penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan ini. Kepada almarhum Ayah (Juliantoni), yang namanya senantiasa hadir dalam setiap doa dan menjadi sumber kekuatan dalam perjalanan ini. Serta kepada Ayah (Muhammad Suyud), yang telah menjadi bagian penting dalam kehidupan penulis, atas dukungan, perhatian,

dan semangat yang selalu diberikan untuk menguatkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;

13. Adik-adikku tersayang, Aini dan Zaidan, yang selalu menghadirkan semangat dan kebahagiaan di tengah proses yang penulis jalani, terima kasih atas doa dan dukungan yang tak pernah putus;
14. Teman-teman seperjuangan, Astri, Angelica Dwita, Chintia, dan Dinda, sahabat seperjalanan yang selalu menghadirkan tawa, semangat, dan dukungan di setiap langkah, terima kasih telah menjadi bagian berharga dalam perjalanan penulis hingga skripsi ini dapat diselesaikan.
15. Teman-teman rekan penelitian, Aldo Setiawan Lukas dan Putik Titian Citra Hening, terima kasih atas bantuan, kerja sama, dan kebersamaan selama proses penelitian, yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
16. Keluarga Tropomyosin Angkatan 2022 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah menjadi rumah kedua selama masa perkuliahan, terima kasih atas kebersamaan dan semangat yang selalu menguatkan langkah penulis;
17. Kepada seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang dengan berbagai cara telah memberikan bantuan, dukungan, dan doa, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa karya ini masih memiliki keterbatasan. Meski demikian, penulis berharap skripsi ini dapat memberi manfaat, serta menjadi bagian kecil dari upaya menambah pengetahuan bagi siapa pun yang membacanya.

Bandar Lampung, 20 Februari 2026

Penulis,

Athaya Aulia Rannisa

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF PHYTOCHEMICAL PROFILE, ANTIINFLAMMATION ACTIVITY OF COMBINATION OF BINAHONG (*Anredera cordifolia*) AND BAY (*Syzygium polyanthum*) LEAF EXTRACT: IN-VITRO STUDY

By

Athaya Aulia Rannisa

Background: Binahong and bay leaf are known contain phenolic compounds, flavonoids, and tannins, which have potential anti-inflammatory. This study aimed to determine total phenolic, flavonoid, and tannin levels, as well as anti-inflammatory activity of combination 70% ethanol and ethyl acetate extracts binahong and bay leaf. **Methods:** Combination of 70% ethanol extract and ethyl acetate of binahong and bay leaf with a ratio 1:1; 1:2; 2:1; 2:0; and 0:2% w/w analyzed total phenolic (mg GAE/g) using Folin–Ciocalteu method, total flavonoids (mg QE/g) using AlCl_3 colorimetric method, total tannins (mg TAE/g) using gelatin precipitation method, and anti-inflammatory activity (IC_{50}) analyzed using Bovine Serum Albumin (BSA) protein denaturation method. Analysis group difference test data carried out using one-way ANOVA and correlation tests between total phenolic, flavonoid, tannin and anti-inflammatory activity levels using Pearson or Spearman. **Results:** Highest total phenolic of 70% ethanol extract and ethyl acetate in 0:2 combination (795.433 and 428.400 mg GAE/g). Highest flavonoid in 1:1 and 0:2 (348.2 and 487.6 mg QE/g), highest tannin in 1:2 (536.9 and 222.533 mg TAE/g). Strongest anti-inflammatory in 0:2 combination (15.546 and 27.37 $\mu\text{g/mL}$). There were significant differences between combinations, in general correlation analysis showed negative relationship between phenolic, flavonoid, and tannin levels to anti-inflammatory activity, while flavonoid of ethyl acetate extract positively correlated. **Conclusion:** Combination binahong and bay leaf extracts had a negative correlation with total phenolic, flavonoid, and tannin to anti-inflammatory activity, while total flavonoid ethyl acetate extract positively correlated. Strongest anti-inflammatory effect found in 0:2 combination of 70% ethanol extract.

Keywords: anti-inflammatory, binahong leaf, bay leaf, extract, phenolics, flavonoids, tannins.

ABSTRAK

IDENTIFIKASI PROFIL FITOKIMIA, AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*): STUDI *IN-VITRO*

Oleh

Athaya Aulia Rannisa

Latar Belakang: Daun binahong dan daun salam diketahui mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar total fenolik, flavonoid, tanin, serta aktivitas antiinflamasi kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong dan daun salam. **Metode:** Kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong dan daun salam dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1; 2:0; dan 0:2 % b/b dianalisis profil kadar total fenolik (mg GAE/g) menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, total flavonoid (mg QE/g) dengan metode kolorimetri $AlCl_3$, total tanin (mg TAE/g) dengan metode presipitasi gelatin, serta aktivitas antiinflamasi (IC_{50}) dianalisis dengan metode denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Analisis data uji beda kelompok dilakukan dengan *one-way ANOVA* dan uji korelasi antara kadar total fenolik, flavonoid, tanin dan aktivitas antiinflamasi dengan *Pearson* atau *Spearman*. **Hasil:** Kadar total fenolik tertinggi ekstrak etanol 70% dan etil asetat pada kombinasi 0:2 (795,433 dan 428,400 mg GAE/g). Kadar flavonoid tertinggi pada 1:1 dan 0:2 (348,2 dan 487,6 mg QE/g), kadar tanin tertinggi pada 1:2 (536,9 dan 222,533 mg TAE/g). Antiinflamasi terkuat pada kombinasi 0:2 (15,546 dan 27,37 $\mu g/mL$). Terdapat perbedaan bermakna antar kombinasi, secara umum analisis korelasi menunjukkan hubungan negatif antara kadar fenolik, flavonoid, dan tanin terhadap aktivitas antiinflamasi, sedangkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat berkorelasi positif. **Kesimpulan:** Kombinasi ekstrak daun binahong dan daun salam memiliki kadar total fenolik, flavonoid dan tanin serta berkorelasi negatif dengan aktivitas antiinflamasi, sedangkan total flavonoid ekstrak etil asetat berkorelasi positif. Antiinflamasi terkuat pada kombinasi 0:2 ekstrak etanol 70%.

Kata Kunci: antiinflamasi, daun binahong, daun salam, ekstrak, fenolik, flavonoid, tanin.

DAFTAR ISI

Halaman

RIWAYAT HIDUP	vi
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Penelitian	4

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 Daun Binahong.....	9
2.2 Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	10
2.2.1 Klasifikasi Salam.....	11
2.2.2 Morfologi Salam.....	11
2.2.3 Khasiat Daun Salam.....	12
2.3 Ekstraksi	14
2.3.1 Definisi Ekstraksi	14
2.3.2 Metode UAE (<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>).....	15
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	15
2.4.1 Flavonoid	17

2.4.2 Alkaloid.....	18
2.4.3 Fenolik	19
2.4.4 Tanin.....	19
2.4.5 Steroid dan Terpenoid	20
2.5 Kadar Total Fenolik.....	21
2.5.1 Metode <i>Folin-ciocalteu</i>	22
2.6 Kadar Total Flavonoid.....	22
2.6.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida	23
2.7 Kadar Total Tanin	24
2.7.1 Metode Presipitasi Gelatin	25
2.8 Peradangan (Inflamasi)	26
2.9 Antiinflamasi	27
2.10 Spektrofotometri UV-Vis.....	29
2.11 Kerangka Teori	31
2.12 Kerangka Konsep	32
2.13 Hipotesis.....	32

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian.....	33
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
3.2.1 Tempat Penelitian	33
3.2.2 Waktu Penelitian.....	33
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.3.1 Alat Penelitian	34
3.3.2 Bahan Penelitian.....	34
3.4 Variabel Penelitian.....	34
3.4.1 Variabel Bebas	34
3.4.2 Variabel Kontrol	35
3.4.3 Variabel Terikat	35
3.5 Definisi Operasional.....	35
3.6 Prosedur Penelitian.....	39
3.6.1 Pengambilan Sampel.....	39
3.6.2 Uji Determinasi Tanaman	39

3.6.3 Pembuatan Simplisia.....	39
3.6.4 Pembuatan Ekstrak.....	40
3.6.5 Uji Skrining Fitokimia.....	41
3.6.6 Pembuatan Larutan Uji.....	43
3.6.7 Uji Kadar Total Fenolik.....	43
3.6.8 Uji Kadar Total Flavonoid.....	45
3.6.9 Uji Kadar Total Tanin.....	46
3.7.10 Uji Aktivitas Antiinflamasi.....	48
3.7 Pengolahan dan Analisis Data.....	49
3.8 Etik Penelitian.....	50
3.9 Alur Penelitian.....	51

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	52
4.1.1 Determinasi Tanaman.....	52
4.1.2 Pembuatan Simplisia Serbuk.....	52
4.1.3 Ekstraksi dan Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	53
4.1.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	55
4.1.5 Hasil Uji Kadar Total Fenolik.....	57
4.1.6 Hasil Uji Kadar Total Flavonoid.....	59
4.1.7 Hasil Uji Kadar Total Tanin.....	62
4.1.8 Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi.....	64
4.1.9 Analisis Data Hubungan Kadar Total Fenolik Terhadap Nilai IC_{50} Aktivitas Antiinflamasi.....	66
4.1.10 Analisis Data Hubungan Kadar Total Flavonoid Terhadap Nilai IC_{50} Aktivitas Antiinflamasi.....	68
4.1.11 Analisis Data Hubungan Kadar Total Tanin Terhadap Nilai IC_{50} Aktivitas Antiinflamasi.....	69
4.2 Pembahasan.....	71
4.2.1 Ekstraksi.....	71
4.2.2 Skrining Fitokimia.....	72
4.2.3 Uji Kadar Fenolik Total.....	73
4.2.4 Uji Kadar Flavonoid Total.....	75

4.2.5 Uji Kadar Tanin Total	76
4.2.6 Uji Aktivitas Antiinflamasi	76
4.2.7 Analisis Hubungan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Tanin Total terhadap Nilai IC_{50} Aktivitas Antiinflamasi.....	80

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan.....	81
5.2 Saran.....	82

DAFTAR PUSTAKA.....	83
----------------------------	-----------

LAMPIRAN	95
-----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	35
2. Perbandingan Kombinasi Daun Binahong dan Daun Salam.....	43
3. Tabel Nilai Koefisien Korelasi	50
4. Hasil Bobot Simplisia Basah dan Kering Daun Binahong dan Daun Salam	52
5. Hasil Susut Pengeringan Daun Binahong dan Daun Salam	53
6. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Binahong dan Daun Salam.....	54
7. Hasil Uji Kadar Air Daun Binahong dan Daun Salam	55
8. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Salam	56
9. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Binahong.....	56
10. Hasil Penetapan Kadar Total Fenolik Ekstrak Etanol 70%	57
11. Hasil Penetapan Kadar Total Fenolik Ekstrak Etil Asetat	58
12. Hasil Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol 70%	60
13. Hasil Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etil Asetat	61
14. Hasil Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol 70%	62
15. Hasil Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Etil Asetat	63
16. Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70%	64
17. Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat	65
18. Hasil Uji Korelasi Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70%.....	67
19. Hasil Uji Korelasi Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil asetat.....	67
20. Hasil Uji Korelasi Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol 70%.....	68
21. Hasil Uji Korelasi Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil asetat	69
22. Hasil Uji Korelasi Kadar Total Tanin Ekstrak Etanol 70%	70
23. Hasil Uji Korelasi Kadar Total Tanin Ekstrak Etil asetat	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	7
2. Studi Morfologi Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>).....	9
3. Jalur Biosintesis Metabolit Sekunder Secara Umum	16
4. Struktur Flavonoid	17
5. Struktur Dasar Alkaloid.....	18
6. Struktur Dasar Fenolik	19
7. Struktur Dasar Tanin	20
8. Struktur Dasar Steroid.....	21
9. Target Mekanisme Kerja Molekuler Antiinflamasi.....	27
10. Spektrum Elektromagnetik.....	30
11. Instrumen Dasar Spektrofotometer UV-Vis	30
12. Kerangka Teori.....	31
13. Kerangka Konsep	32
14. Alur Penelitian.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik.....	96
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman Binahong	97
Lampiran 3. Hasil Determinasi Tanaman Salam.....	99
Lampiran 4. Diagram Penelitian	101
Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel.....	109
Lampiran 6. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	113
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	146
Lampiran 8. Hasil Analisis Data Statistika Menggunakan SPSS.....	155
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis Bovine Serum Albumin</i>	161
Lampiran 10. <i>Certificate of Analysis</i> Kuersetin.....	162
Lampiran 11. <i>Certificate of Analysis</i> Asam Galat.....	163
Lampiran 12. <i>Certificate of Analysis folin ciocalteu</i>	164
Lampiran 13. <i>Certificate of Analysis</i> Natrium Hidroksida	165
Lampiran 14. <i>Certificate of Analysis</i> Aluminium Klorida.....	166
Lampiran 15. <i>Certificate of Analysis</i> Natrium Karbonat	167
Lampiran 16. <i>Certificate of Analysis</i> Magnesium.....	168
Lampiran 17. <i>Certificate of Analysis</i> Feri Klorida.....	169
Lampiran 18. <i>Certificate of Analysis</i> Etanol	170

DAFTAR SINGKATAN

1. BSA : *Bovine Serum Albumin*
2. TGF- α : *Transforming Growth Factor-alpha*
3. TGF- β : *Transforming Growth Factor-beta*
4. TNF- α : *Tumor Necrosis Factor-alpha*
5. UAE : *Ultrasound Assisted Extraction*
6. NF- κ B : *Nuclear Factor-Kappa Beta*
7. MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase*
8. COX : *Cyclooxygenase*
9. iNOS : *Inducible Nitric Oxide Synthase*
10. IL : *Interleukin*
11. Nrf2 : *Nuclear factor-erythroid-2 related factor*
12. ARE : *Antioxidant Response Element*
13. TLRs : *Toll like Receptors*
14. AP-1 : *Activator Protein-1*
15. TPC : *Total Phenolic Content*
16. FC : *Folin-ciocalteu*
17. TFC : *Total Flavonoid Content*
18. IR : *Infra-Red*
19. NIR : *Near-Infrared*
20. GAE : *Gallic Acid Equivalent*
21. QE : *Quercetin Equivalent*
22. TAE : *Tannic Acid Equivalent*
23. HPLC : *High Performance Liquid Chromatography*
24. PRRs : *Pattern Recognition Receptors*
25. PAMPs: *Pathogen Associated Molecular Patterns*
26. DAMPs: *Damage-Associated Molecular Patterns*
27. ROS : *Reactive Oxygen Spesies*
28. NSAID: *Nonsteroid Anti-inflammatory Drugs*
29. IC₅₀ : *Inhibition concentration 50%*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan obat berbahan dasar tumbuhan meningkat di berbagai negara, lebih dari 75% penduduk dunia masih menggunakan pengobatan tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan dasar (Abraham *et al.*, 2020). Hal ini karena obat herbal dianggap lebih aman dan memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat sintesis. Selain itu, tanaman obat mudah diperoleh dan banyak tersedia di lingkungan sekitar, terutama di negara berkembang.

Disfungsi organ menjadi salah satu risiko yang dapat meningkat dikarenakan oleh penggunaan jangka panjang obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) pada pengobatan penyakit degeneratif seperti osteoarthritis. Sebuah studi kohort di Korea menunjukkan adanya penurunan laju filtrasi glomerulus (eGFR) dan peningkatan risiko penyakit ginjal kronis yang disebabkan oleh penggunaan NSAID secara berkepanjangan (Lim *et al.*, 2025). Oleh karena itu, tanaman obat dengan kandungan kombinasi aktivitas antioksidan dan antiinflamasi berpotensi menjadi alternatif terapi jangka panjang dengan efek samping yang lebih sedikit.

Binahong (*Anredera cordifolia*) menjadi salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk obat. Secara empiris, binahong digunakan untuk mengobati peradangan, mempercepat penyembuhan luka, dan gangguan kesehatan lainnya (Salim *et al.*, 2021). Binahong, dalam penelitian modernnya menunjukkan kekayaan akan kandungan metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid dalam aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Pratiwi *et al.*, 2025).

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) seringkali dimanfaatkan masyarakat, selain sebagai bumbu dapur, dalam pengobatan tradisional daun salam telah lama digunakan untuk mengatasi peradangan, menurunkan tekanan darah, dan kolesterol. Sebuah studi menunjukkan daun salam mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang mendukung aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Julizan *et al.*, 2023).

Berdasarkan tinjauan literatur, daun binahong dan daun salam diketahui memiliki manfaat antiinflamasi ketika digunakan secara terpisah dalam bentuk ekstrak tunggal. Namun, dari pencarian literatur yang telah dilakukan, belum ada studi yang meneliti kandungan total fenolik, total flavonoid, total tanin, serta aktivitas antiinflamasi dari ekstrak gabungan kedua daun tersebut. Masalah utama yang belum terpecahkan adalah bagaimana pemberian ekstrak tunggal atau kombinasi daun binahong dan daun salam memengaruhi pengukuran kandungan total fenolik, total flavonoid, total tanin serta dampaknya terhadap hasil uji aktivitas antiinflamasi.

Studi *in-vitro* untuk aktivitas antiinflamasi memiliki keunggulan seperti persyaratan sampel yang relatif kecil, efisiensi pengujian, dan tidak memerlukan uji pada hewan (Fadlilaturrahmah *et al.*, 2022). Hasil studi *in-vitro* ini diharapkan menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut, terutama dalam pengembangan formulasi obat dengan aktivitas farmakologis sebagai antiinflamasi. Penelitian awal melalui studi *in-vitro* perlu dilakukan untuk membuktikan efek ekstrak tunggal dan kombinasi daun binahong dan daun salam terhadap kandungan total fenolik, total flavonoid, total tanin, serta aktivitas antiinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Berapa kadar total fenolik, flavonoid, dan tanin pada ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat?
- 1.2.2 Bagaimana gambaran aktivitas antiinflamasi (nilai IC_{50}) dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat?
- 1.2.3 Apakah terdapat hubungan antara peningkatan kadar total fenolik, flavonoid dan tanin terhadap aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.3.1 Menentukan kadar total fenolik, flavonoid dan tanin dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat.
- 1.3.2 Mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat melalui penentuan nilai IC_{50} .
- 1.3.3 Menganalisis hubungan antara kadar total fenolik, flavonoid dan tanin terhadap aktivitas antiinflamasi dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium*

polyanthum) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1 Manfaat Bagi Institusi

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam mendukung peran institusi untuk mengembangkan potensi pemanfaatan daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai sumber diperolehnya antiinflamasi berbasis bahan alam.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam pengembangan obat baru berdasarkan data kadar total fenolik, flavonoid dan tanin serta aktivitas antiinflamasi dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Diharapkan penelitian ini dapat menambah informasi dan edukasi bagi masyarakat tentang pemanfaatan daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang dapat digunakan sebagai pengobatan berbasis bahan alam dengan aktivitas antiinflamasi.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini dibuat untuk menghindari pelebaran fokus penelitian sehingga lebih terarah dan tujuan dari penelitian ini dapat tercapai. Adapun batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.5.1 Metode pengujian kadar total fenolik dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode *folin-ciocalteu*.

- 1.5.2 Metode pengujian kadar total flavonoid dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida.
- 1.5.3 Metode pengujian kadar total tanin dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode presipitasi gelatin.
- 1.5.4 Metode pengujian aktivitas antiinflamasi dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena khasiatnya yang beragam. Tanaman merambat ini mudah tumbuh di berbagai kondisi lingkungan dan dikenal memiliki kandungan metabolit sekunder yang berperan penting bagi kesehatan. Dengan potensi farmakologisnya, binahong semakin menarik perhatian sebagai sumber herbal untuk pengembangan obat modern.

2.1.1 Klasifikasi Binahong

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) termasuk dalam famili *Basellaceae* dan secara taksonomi dikelompokkan ke dalam genus *Anredera*. Hasil penelitian filogenetik molekuler menunjukkan bahwa binahong memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan tanaman yang tergolong dalam ordo *Caryophyllales*, salah satunya dengan spesies *Cistanthe longiscapa* dari famili *Montiaceae*. Analisis filogenetik tersebut diperoleh melalui metode sekuensing genom lengkap pada kloroplas, yang menghasilkan informasi genetik menyeluruh. Data ini sangat penting karena dapat menjelaskan hubungan evolusi antarspesies serta memperkuat dasar klasifikasi dalam lingkup keluarga maupun antar keluarga tanaman. Pemahaman taksonomi yang akurat juga membantu dalam mengidentifikasi potensi genetik suatu tanaman untuk kebutuhan budidaya maupun penelitian lanjutan di bidang farmakologi dan bioteknologi (Weng & Shen, 2021).



Gambar 1. Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)
(Salim *et al.*, 2021)

Berikut ini adalah klasifikasi tanaman binahong secara lengkap (Perkasa, 2023)

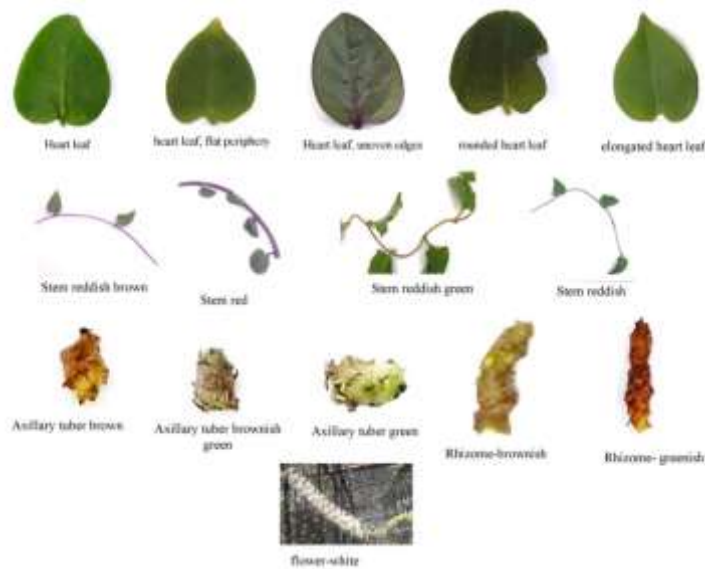
- a. Kingdom: Plantae
- b. Subkingdom: Tracheobionta
- c. Super Divisi: Spermatophyta
- d. Divisi: Magnoliophyta
- e. Kelas: Magnoliopsida
- f. Sub Kelas: Hamamelidae
- g. Ordo: Caryophyllales
- h. Famili: Basellaceae
- i. Genus: *Anredera*
- j. Spesies: *Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis

2.1.2 Morfologi Binahong

Binahong dikenal sebagai tanaman merambat yang kuat dengan batang berkayu dan memiliki kemampuan melilit pada media rambatnya. Tanaman tahunan ini tumbuh merambat dengan panjang mencapai sekitar 5 meter. Tanaman ini dapat dibudidayakan dengan mudah, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi, bahkan dapat ditanam dalam pot sebagai tanaman

hias maupun obat. Binahong berkembang biak melalui biji, namun perbanyakan vegetatif dengan akar atau rimpang lebih umum dilakukan. Morfologinya terdiri atas batang, daun, bunga, akar, dan rimpang, di mana daunnya berwarna hijau, berbentuk hati, tersusun berseling, bertangkai sangat pendek, dengan ukuran panjang 5-10 cm dan lebar 3-7 cm. Batangnya berbentuk silindris, bercabang, bertekstur halus, serta memiliki warna kemerahan pada bagian tertentu. Rimpangnya tumbuh horizontal dengan tunas baru yang muncul setelah penanaman, biasanya ditanam pada kedalaman 3-5 cm dengan jarak tanam sekitar 25-60 cm di lahan budidaya. Struktur batang dan rimpang yang khas menjadikan binahong mampu beradaptasi dengan baik di wilayah tropis maupun subtropis (Perkasa, 2023).

Batangnya dapat berwarna hijau hingga hijau kemerahan, sementara pada bagian buku batang biasanya terdapat nodul atau tonjolan kecil yang berfungsi dalam proses perbanyakan vegetatif. Daun binahong umumnya berbentuk hati atau menyerupai hati memanjang dengan pola tulang menyirip. Warna daun bervariasi dari hijau muda hingga hijau tua, bahkan dapat menunjukkan perbedaan warna sesuai keragaman genetiknya. Selain itu, tanaman ini juga mampu menghasilkan rimpang berwarna hijau tidak beraturan serta umbi ketiak yang membantu memperluas penyebarannya di berbagai kondisi lingkungan. Menariknya, beberapa varietas binahong ada yang tidak menghasilkan bunga, sehingga identifikasi lebih banyak mengandalkan ciri vegetatifnya (Hasanah & Mawarni, 2021).



Gambar 2. Studi Morfologi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)
(Hasanah & Mawarni, 2021)

Studi morfologi lanjutan menunjukkan adanya variasi yang cukup besar dalam bentuk daun, warna, hingga karakteristik batang pada populasi binahong dari dataran tinggi maupun dataran rendah. Perbedaan ini mencerminkan adanya adaptasi ekologis yang memengaruhi penampilan fisik tanaman. Keragaman morfologi tersebut sangat berharga untuk pemilihan varietas unggul, baik untuk tujuan pemuliaan maupun sebagai bahan baku pengobatan tradisional (Hasanah & Mawarni, 2021).

2.1.3 Khasiat Daun Binahong

Daun binahong diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, fenolik, steroid, terpenoid, alkaloid, dan saponin. Kandungan bioaktif ini berperan besar dalam memberikan efek farmakologis yang luas. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa senyawa tersebut mampu memodulasi jalur inflamasi, mempercepat penyembuhan luka dengan merangsang proliferasi fibroblas dan osteoblas, serta memberikan aktivitas antioksidan. Khususnya, saponin berperan dalam

meningkatkan faktor pertumbuhan seperti TGF- α (*Transforming Growth Factor-alfa*) dan TGF- β (*Transforming Growth Factor-beta*), yang sangat penting dalam proses perbaikan jaringan. Peran senyawa bioaktif ini memperkuat alasan mengapa binahong sering digunakan dalam pengobatan tradisional maupun penelitian modern terkait fitoterapi (Hanafiah *et al.*, 2022).

Ekstrak daun binahong telah terbukti memiliki sifat antiinflamasi, antimikroba, antihipertensi, serta antihiperlipidemia. Efek antiinflamasi dan penyembuhan luka diyakini bekerja melalui penghambatan mediator proinflamasi (Pratiwi *et al.*, 2025). Aktivitas antimikroba diduga berasal dari kemampuan saponin dalam merusak membran sel patogen (Kristanto *et al.*, 2022). Dari sisi kesehatan kardiovaskular, binahong dapat membantu mengatur tekanan darah melalui perbaikan metabolisme lipid dan peningkatan aktivitas *nitric oxide* (NO) dalam tubuh. Mekanisme tersebut mendukung peran binahong sebagai kandidat bahan herbal yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut. Dengan berbagai khasiat farmakologisnya, daun binahong menjadi salah satu tanaman obat yang menjanjikan untuk terapi penyakit peradangan, infeksi, maupun gangguan metabolik. Potensi ini membuka peluang bagi penelitian lanjutan agar khasiat binahong dapat dibuktikan secara ilmiah dan diterapkan secara luas di bidang kesehatan (Salim *et al.*, 2021).

2.2 Tanaman Salam (*Syzygium polyanthum*)

Tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tumbuhan tropis yang banyak dimanfaatkan sebagai bumbu dapur sekaligus obat tradisional. Daunnya memiliki aroma khas yang tidak hanya memberikan cita rasa pada masakan, tetapi juga mengandung senyawa bioaktif dengan berbagai manfaat kesehatan. Karena itu, salam menjadi tanaman penting yang bernilai kuliner sekaligus farmakologis.

2.2.1 Klasifikasi Salam

Tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) diklasifikasikan secara taksonomi dalam kingdom *Plantae*, filum *Magnoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Myrtales*, dan termasuk ke dalam famili *Myrtaceae*. Famili ini dikenal terdiri atas tumbuhan berkayu, baik berupa pohon maupun semak, yang umumnya memiliki minyak atsiri serta daun yang tersusun berhadapan (Julizan *et al.*, 2023b).

Syzygium polyanthum berada dalam genus *Syzygium*, yang mencakup beragam spesies dengan daun aromatik serta nilai obat yang cukup penting. Penempatan salam dalam famili *Myrtaceae* diperkuat melalui kajian morfologi dan analisis filogenetik molekuler, sehingga kedudukan taksonominya dapat dipastikan secara ilmiah. Keberadaan minyak atsiri dalam struktur tumbuhan menjadi salah satu ciri utama yang menegaskan kesesuaiannya dengan karakter famili tersebut (Ismail & Wan Amir, 2019). Dengan dasar klasifikasi ini, tanaman salam memiliki posisi penting tidak hanya dalam dunia botani, tetapi juga dalam bidang farmakologi karena potensinya sebagai tanaman obat.

2.2.2 Morfologi Salam

Secara morfologi, salam merupakan tanaman berkayu yang dapat tumbuh sebagai semak besar atau pohon kecil dengan batang silindris yang relatif halus. Batangnya biasanya berbentuk bulat dan kokoh, serta dilengkapi sistem akar tunggang yang kuat sehingga mampu menopang pertumbuhan tanaman. Daunnya berbentuk lonjong dengan pangkal meruncing dan ujung runcing tajam, serta memiliki tepi rata. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau tua mengilap, sedangkan bagian bawahnya berwarna hijau lebih pucat (M. Abdulrahman *et al.*, 2018).

Salah satu ciri khas daun salam adalah aromanya yang kuat ketika diremas, sehingga mudah dikenali (Maryani & Halim, 2022). Bunganya tersusun

dalam malai, muncul di ujung atau ketiak daun, dengan bentuk kelopak menyerupai corong kecil dan benang sari yang banyak. Keberadaan bunga ini merupakan struktur reproduktif penting bagi kelangsungan tanaman salam. Keunikan morfologi ini membuat salam tidak hanya berguna secara fungsional, tetapi juga memiliki nilai estetika bila ditanam sebagai tanaman pekarangan (M. D. Abdulrahman, 2022).

Berdasarkan kajian anatomi, daun salam memiliki struktur lamina dengan tiga lapisan jaringan palisade mesofil yang mendominasi ketebalan helaian daun. Di bawahnya terdapat beberapa lapisan jaringan spons yang berfungsi sebagai ruang udara antar sel, sehingga memungkinkan pertukaran gas berlangsung optimal. Kelenjar minyak atsiri banyak ditemukan pada permukaan atas daun (*adaxial*), yang menjadi sumber utama aroma khas daun salam (M. Abdulrahman *et al.*, 2018).

Struktur stomata pada daun bersifat anisositik, yaitu setiap stomata dikelilingi oleh tiga sel tetangga, dan umumnya terletak di bagian bawah daun (*hipostomatik*). Tulang daun utama memiliki sistem pembuluh terbuka berbentuk melingkar, sedangkan tangkai daun (*petiolus*) terdiri atas jaringan parenkim yang juga dipenuhi kelenjar minyak. Kehadiran kelenjar ini tidak hanya menghasilkan aroma, tetapi juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap gangguan lingkungan. Dengan demikian, aspek anatomi daun salam menunjukkan hubungan erat antara struktur dan fungsi, baik dalam proses fisiologis maupun pemanfaatannya bagi manusia (M. D. Abdulrahman, 2022).

2.2.3 Khasiat Daun Salam

Daun salam diketahui kaya akan metabolit sekunder, terutama senyawa fenolik dan tanin yang berperan besar dalam aktivitas biologisnya. Senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan cara menetralkan radikal bebas, sehingga melindungi sel tubuh dari kerusakan oksidatif.

Selain itu, aktivitas antiinflamasi daun salam terkait dengan kemampuan senyawa bioaktifnya dalam menekan mediator inflamasi, seperti TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-alpha*) (Hasan *et al.*, 2020). Mekanisme ini berkontribusi pada pengendalian proses peradangan yang sering menjadi pemicu penyakit kronis. Dengan kandungan bioaktif yang melimpah, daun salam semakin mendapat perhatian dalam riset farmakologi modern. Keberadaan senyawa ini juga memberikan alasan kuat mengapa daun salam sejak lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Hal ini membuktikan adanya keterhubungan antara pengetahuan lokal dan temuan ilmiah yang semakin berkembang (Aditya *et al.*, 2022a).

Daun salam bersifat antioksidan dan antiinflamasi, selain itu daun salam juga mengandung senyawa yang mendukung aktivitas antimikroba, antihipertensi, serta antidiabetes. Aktivitas antihipertensi diduga berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik, seperti asam galat, dalam menghambat enzim pengubah angiotensin dan mengurangi kontraksi otot polos pembuluh darah (Ismail *et al.*, 2020). Sementara itu, aktivitas antimikroba daun salam berhubungan dengan kemampuan polifenol dan tanin dalam merusak dinding sel maupun membran mikroba, sehingga menghambat pertumbuhan patogen (Nordin *et al.*, 2019). Pada kasus metabolik, kandungan bioaktif daun salam berperan dalam mengatur kadar gula darah dan memperbaiki metabolisme tubuh. Keseluruhan mekanisme farmakologis ini menegaskan bahwa daun salam memiliki potensi multipotensial dalam pengobatan berbagai penyakit, baik kardiovaskular, metabolik, maupun infeksi. Oleh karena itu, tanaman ini dapat dijadikan sumber bahan alami yang mendukung pengembangan terapi berbasis herbal. Dengan penelitian lebih lanjut, pemanfaatan daun salam di bidang kesehatan berpeluang semakin luas dan teruji secara klinis (Julizan *et al.*, 2023b).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan padat maupun cair dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai. Prinsip dasar ekstraksi adalah memindahkan senyawa aktif dari matriks tanaman ke dalam pelarut melalui mekanisme difusi dan pelarutan. Proses ini umumnya dibagi menjadi dua metode, yaitu metode konvensional dan nonkonvensional, yang masing-masing bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif dengan efisiensi tinggi serta meminimalisasi kerusakan maupun perubahan sifat alaminya. Teori ekstraksi menekankan pentingnya beberapa faktor seperti jenis pelarut, suhu, lama waktu, serta kondisi fisik bahan yang diekstrak. Faktor-faktor tersebut sangat berpengaruh terhadap hasil akhir, baik dari segi jumlah senyawa yang diperoleh maupun selektivitas terhadap komponen target. Oleh karena itu, pemilihan kondisi ekstraksi yang tepat sangat menentukan kualitas hasil penelitian maupun produksi skala industri. Dengan pemahaman yang mendalam, proses ekstraksi dapat dimanfaatkan secara optimal untuk berbagai kebutuhan, termasuk bidang farmasi, pangan, dan bioteknologi (Rahmawati *et al.*, 2025).

Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan suhu pemanasannya yaitu cara dingin dan cara panas. Metode ekstraksi cara dingin meliputi metode maserasi dan perkolasi sedangkan cara panas meliputi refluks, soxhletasi, infusa, dekokta, destilasi, dan digesti. Selain cara panas dan cara dingin terdapat pula metode ekstraksi modern yang meliputi ekstraksi sentrifugasi, superkritikal, dan ultrasonik (sonikasi) (Syamsul *et al.*, 2020).

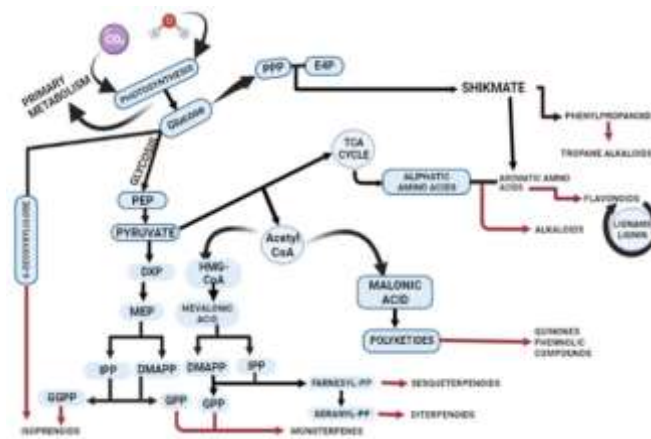
2.3.2 Metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) adalah teknik ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20 kHz untuk mempercepat proses pemisahan senyawa. Gelombang ini menghasilkan efek mekanik, termal, serta kavitasi yang berperan dalam merusak dinding sel tanaman sehingga senyawa aktif lebih mudah terlepas. Kavitasi yang terjadi ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung mikro dalam pelarut yang kemudian pecah, menghasilkan tekanan tinggi yang mempercepat pelepasan zat terlarut. Mekanisme tersebut juga meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam jaringan tanaman sehingga efisiensi ekstraksi menjadi lebih tinggi. Selain itu, UAE mampu memperpendek waktu ekstraksi, mengurangi penggunaan pelarut, serta mempertahankan stabilitas bioaktivitas senyawa karena bekerja pada suhu relatif rendah. Teknologi ini dianggap ramah lingkungan atau *green technology* karena menghemat energi dan menurunkan potensi degradasi senyawa aktif dibandingkan metode konvensional. Untuk mendapatkan hasil maksimal, diperlukan optimasi parameter ultrasonik seperti daya, frekuensi, dan lama ekstraksi. Dengan pengaturan yang tepat, UAE menjadi metode yang menjanjikan dalam industri farmasi, pangan, maupun penelitian fitokimia modern (Shen *et al.*, 2023).

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang diproduksi oleh organisme, terutama tumbuhan dan mikroorganisme, namun tidak berperan langsung dalam pertumbuhan, perkembangan, maupun reproduksi normal (Pu *et al.*, 2024). Senyawa ini lebih berfungsi dalam aspek ekologi, seperti melindungi diri dari predator, patogen, atau kompetisi dengan organisme lain. Peranannya juga dapat berupa daya tarik bagi penyerbuk maupun perlindungan dari stres lingkungan. Metabolit sekunder memiliki keragaman kimia yang sangat luas dan biasanya diklasifikasikan ke dalam kelompok utama seperti terpenoid, fenolik, alkaloid,

(Al-Khayri *et al.*, 2023). Keberadaan senyawa ini sangat penting bagi kelangsungan hidup organisme, karena memberikan keunggulan adaptif yang tidak dimiliki metabolit primer. Selain itu, metabolit sekunder juga banyak dimanfaatkan dalam bidang farmasi, industri pangan, dan bioteknologi (Pu *et al.*, 2024).

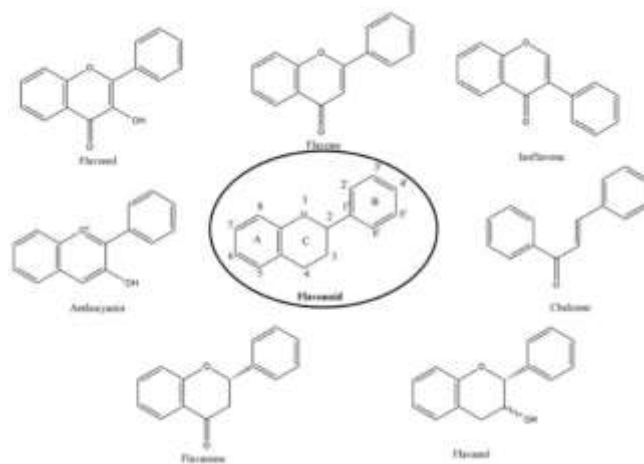


Gambar 3. Jalur Biosintesis Metabolit Sekunder Secara Umum (Reshi *et al.*, 2023)

Metabolit sekunder pada tumbuhan disintesis melalui jalur metabolisme khusus yang berasal dari metabolisme primer. Senyawa ini meliputi golongan fenolik, terpen, steroid, serta senyawa flavonoid, dengan fenolik umumnya dibentuk melalui jalur asam shikimat dan siklus Krebs. Jalur asam shikimat menghasilkan asam amino aromatik seperti L-triptofan, L-tirosin, dan L-fenilalanin yang menjadi prekursor penting bagi berbagai metabolit sekunder. Salah satu produk utama jalur ini adalah korismat yang berperan sebagai prekursor sentral dalam pembentukan senyawa fenol maupun flavonoid. Biosintesis metabolit sekunder diatur oleh tumbuhan sebagai respon terhadap tekanan lingkungan, misalnya kekeringan, infeksi patogen, atau kadar garam tinggi. Proses ini menunjukkan keterkaitan erat antara metabolisme primer dan sekunder, yang bersama-sama mendukung adaptasi serta mekanisme pertahanan tumbuhan. Dengan demikian, produksi metabolit sekunder tidak hanya penting bagi kelangsungan hidup tumbuhan, tetapi juga memiliki potensi besar dalam bidang farmasi dan bioteknologi (Reshi *et al.*, 2023).

2.4.1 Flavonoid

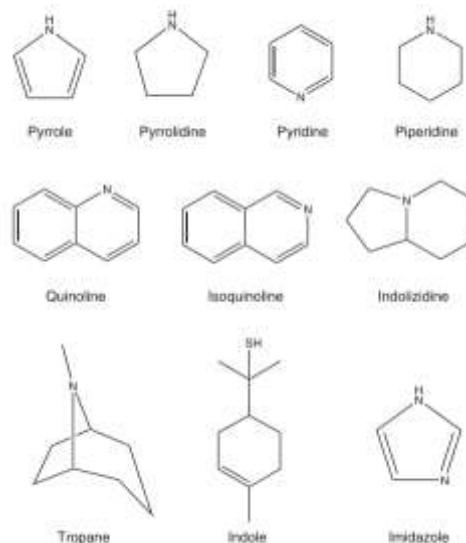
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang ditandai dengan struktur cincin planar, terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon membentuk cincin heterosiklik pirana. Aktivitas anti-inflamasi flavonoid sangat dipengaruhi oleh pola hidroksilasi, khususnya keberadaan gugus hidroksil (Al-Khayri *et al.*, 2022). Karakteristik struktur ini memungkinkan flavonoid mengatur proses peradangan dengan cara menghambat jalur pensinyalan penting seperti NF- κ B (*Nuclear Factor Kappa-B*) dan MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). Selain itu, flavonoid juga menekan aktivitas enzim proinflamasi seperti COX-2 (*Cyclooxygenase-2*) dan iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*), serta mengurangi produksi sitokin proinflamasi. Melalui mekanisme tersebut, flavonoid berperan sebagai senyawa bioaktif dengan efek anti-inflamasi yang kuat. Pemanfaatannya dalam penelitian maupun terapi menunjukkan potensi besar sebagai agen alami untuk pengendalian penyakit yang terkait dengan peradangan kronis (Ysrafil *et al.*, 2023a).



Gambar 4. Struktur Flavonoid (Al-Khayri *et al.*, 2022a)

2.4.2 Alkaloid

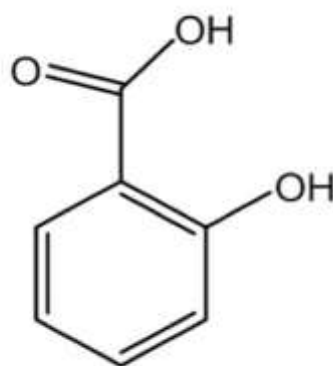
Alkaloid adalah kelompok senyawa organik alami yang beragam, ditandai dengan keberadaan atom nitrogen dalam cincin heterosiklik. Keragaman struktur ini mencakup kerangka isoquinolin, benzoazepin, dan jenis kerangka nitrogen lainnya (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2020). Aktivitas anti-inflamasi alkaloid sering kali terkait dengan kemampuannya mengatur jalur pensinyalan peradangan, seperti NF- κ B, serta memberikan efek antioksidan melalui aktivasi jalur Nrf2/ARE yang berperan dalam menurunkan stres oksidatif dan menekan mediator proinflamasi. Keberhasilan aktivitas biologis alkaloid juga sangat dipengaruhi oleh ciri struktural dan stereokimia, misalnya konfigurasi absolut pada pusat kiral tertentu. Sebagai contoh, alkaloid isoquinolin seperti litcubanine A dapat menghambat ekspresi iNOS sekaligus mengatur sinyal NF- κ B untuk menurunkan peradangan. Sementara itu, alkaloid benzoazepin menunjukkan aktivitas berbeda tergantung pada konfigurasi strukturnya dalam menghambat produksi sitokin. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kecil dalam struktur dapat berpengaruh besar terhadap potensi farmakologis alkaloid (Souza *et al.*, 2020).



Gambar 5. Struktur Dasar Alkaloid (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2020)

2.4.3 Fenolik

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang ditandai dengan adanya satu atau lebih gugus hidroksil pada cincin aromatik, mencakup fenolat sederhana, flavonoid, tanin, hingga polifenol lainnya (Xie *et al.*, 2024). Senyawa ini berperan penting dalam pertahanan tanaman sekaligus memiliki aktivitas antiinflamasi melalui pengaturan berbagai jalur pensinyalan sel, seperti NF- κ B, MAPK, NLRP3 inflammasome, Nrf2, TLRs, dan IL-17. Aktivitas tersebut diperkuat oleh kemampuan gugus hidroksil fenolik dalam menangkap radikal bebas, menghambat enzim proinflamasi, serta menekan produksi sitokin penyebab peradangan. Efektivitas antiinflamasi senyawa fenolik sangat dipengaruhi oleh struktur kimianya, termasuk jumlah dan posisi gugus hidroksil maupun pola metilasi dan konjugasi (Bouhlali *et al.*, 2020).



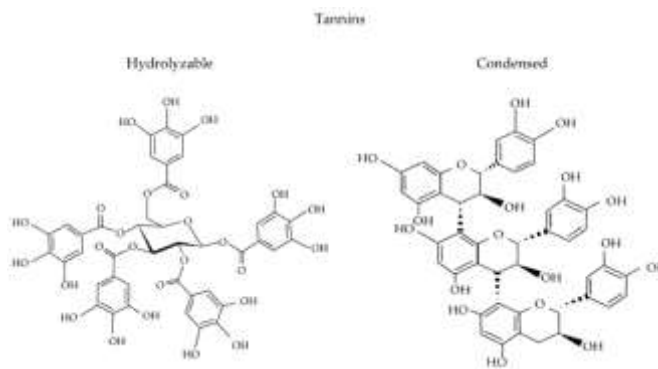
Phenolic acid

Gambar 6. Struktur Dasar Fenolik (Zin *et al.*, 2020)

2.4.4 Tanin

Tanin merupakan kelompok senyawa polifenol dengan berat molekul tinggi yang sangat beragam dan secara umum diklasifikasikan menjadi tanin terhidrolisis serta tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis biasanya memiliki inti poliol, umumnya berupa glukosa, yang teresterifikasi dengan unit asam galat atau asam elagat, sedangkan tanin terkondensasi atau proantosianidin merupakan polimer dari unit flavan-3-ol. Ciri khas tanin adalah

kemampuannya mengikat dan mengendapkan protein, yang berasal dari banyaknya gugus hidroksil sehingga mampu membentuk ikatan hidrogen kuat serta kompleksasi dengan protein maupun biomolekul lain (Cosme *et al.*, 2025). Aktivitas anti-inflamasi tanin diyakini berasal dari kemampuannya memodulasi respon imun dengan cara menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α , serta menghambat enzim peradangan seperti iNOS. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang dapat mengurangi stres oksidatif, sehingga berperan penting dalam mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan (Jing *et al.*, 2022).

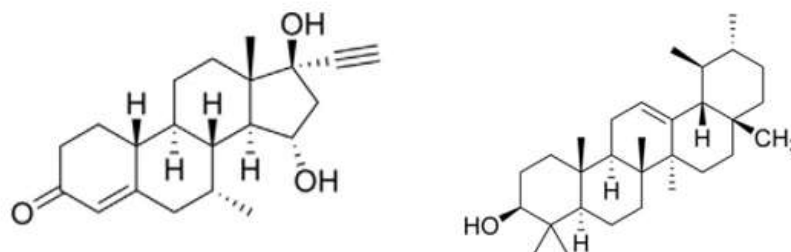


Gambar 7. Struktur Dasar Tanin (Cosme *et al.*, 2025)

2.4.5 Steroid dan Terpenoid

Steroid-terpenoid adalah kelompok besar senyawa alami yang terbentuk secara biosintetik dari unit isoprena dan ditandai oleh adanya inti steroid atau kerangka terpenoid dengan variasi gugus fungsional. Golongan terpenoid meliputi monoterpen, seskuiterpen, diterpen, hingga triterpen, yang banyak memiliki hubungan struktural dengan steroid melalui modifikasi seperti hidroksilasi, oksidasi, maupun perubahan susunan cincin. Sifat anti-inflamasi senyawa ini terutama berkaitan dengan kemampuannya menekan aktivasi sel imun menunjukkan efek immunosupresif dengan menurunkan mediator peradangan serta menghambat migrasi sel imun menuju jaringan yang

mengalami inflamasi. Hal ini memperlihatkan potensi besar steroid-terpenoid sebagai kandidat terapi untuk penyakit inflamasi maupun gangguan autoimun (Ghani, 2020).



Gambar 8. Struktur Dasar Steroid (kiri) dan Terpenoid (Kanan)
(Ghani, 2020)

2.5 Kadar Total Fenolik

Total fenol atau *Total Phenolic Content* (TPC) merupakan ukuran kuantitatif yang menggambarkan konsentrasi keseluruhan senyawa fenolik dalam bahan tumbuhan maupun produk pangan. Senyawa fenolik sendiri adalah metabolit sekunder tumbuhan yang ditandai dengan adanya satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik, yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan melalui reaksi redoks. TPC mencakup berbagai kelompok senyawa fenolik, seperti fenol sederhana, flavonoid, tanin, dan polifenol lainnya. Nilai TPC sering digunakan sebagai parameter penting dalam menilai potensi antioksidan, kualitas nutraseutikal, serta kapasitas bioaktif suatu ekstrak tumbuhan atau bahan pangan. Dengan demikian, pengukuran total fenol sangat relevan dalam penelitian farmasi, nutrisi, dan ilmu pangan sebagai indikator manfaat kesehatan dari suatu produk (Rojas-Ocampo *et al.*, 2021).

Metode uji kadar total fenolik yaitu *folin-ciocalteu*, *Fast Blue BB*, *Prussian-Blue*, *Folin-Denis* (Joyce G.N *et al.*, 2024; Nikolaeva *et al.*, 2022; Zugazua-Ganado *et al.*, 2024). Metode utama yang digunakan untuk menentukan kadar fenolik total (*Total Phenolic Content*) umumnya berbasis spektrofotometri

menggunakan reagen *Folin–Ciocalteu*. Selain metode konvensional ini, kini dikembangkan variasi mikropelat untuk efisiensi volume dan waktu analisis, serta metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk identifikasi dan kuantifikasi senyawa fenolik individu. Beberapa modifikasi pada reagen dan kondisi reaksi juga diterapkan untuk menyesuaikan jenis sampel dan meningkatkan akurasi hasil (Majewska., E. *et al.* 2025; Michiu., D. *et al.* 2022)

2.5.1 Metode *Folin-ciocalteu*

Metode *Folin-ciocalteu* (FC) merupakan uji kolorimetri yang paling banyak digunakan untuk menentukan kandungan total fenol dalam ekstrak tumbuhan maupun sampel pangan. Prinsip dasar metode ini adalah reduksi pereaksi *Folin-ciocalteu*, yang merupakan campuran asam fosfomolibdat dan fosfotungstat, oleh senyawa fenolik dalam kondisi basa sehingga membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang sekitar 765 nm. Intensitas warna yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi fenolik yang ada dalam sampel, dan hasil biasanya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat. Meskipun metode ini populer karena praktis dan sensitif, kelemahannya adalah kurang spesifik terhadap fenol karena zat pereduksi lain juga dapat ikut bereaksi. Oleh karena itu, diperlukan kontrol metodologis yang ketat agar hasil yang diperoleh tetap valid dan dapat dipertanggungjawabkan (Dominguez-López *et al.*, 2023).

2.6 Kadar Total Flavonoid

Kandungan flavonoid total atau *Total Flavonoid Content* (TFC) merupakan jumlah keseluruhan senyawa flavonoid yang terdapat dalam suatu ekstrak atau sampel tanaman. Hasil pengukuran biasanya dinyatakan dalam bentuk ekuivalen dengan flavonoid standar, seperti kuersetin atau katekin (Annas *et al.*, 2023). Flavonoid termasuk kelompok metabolit sekunder polifenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan serta dikenal memiliki sifat antioksidan,

antiinflamasi, dan antimikroba. Parameter ini sangat penting dalam menilai potensi biologis serta karakterisasi kimia bahan tanaman maupun produk turunannya. Kuantifikasi TFC berperan besar dalam penelitian fitokimia, karena flavonoid sering kali menjadi komponen utama yang memberikan efek terapeutik. Dengan demikian, penentuan kadar flavonoid total membantu memperkuat dasar ilmiah pemanfaatan tanaman sebagai sumber bahan obat alami (Nicolescu *et al.*, 2025a).

Metode uji kadar total flavonoid diantaranya yaitu kolorimetri Aluminium Klorida (AlCl_3), Aluminium Klorida dengan Natrium Nitrit ($\text{AlCl}_3\text{-NaNO}_2$), 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), *diethylene glycol and sodium hydroxide* (DEG-NaOH), *p-(dimethylamino) cinnamaldehyde* (DMACA) (Nicolescu *et al.*, 2025b). Metode yang umum digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total (TFC) meliputi analisis kolorimetrik dengan reaksi kompleksasi menggunakan aluminium klorida (AlCl_3) (Struchkov, P. 2018). Selain itu, metode terkini telah mengembangkan pendekatan spektroskopi inframerah (IR) atau *near-infrared* (NIR) yang dikombinasikan dengan *chemometrics* untuk memprediksi TFC tanpa perlu reagen kimia tambahan (Wulandari *et al.*, 2020).

2.6.1 Metode Kolorimetri Aluminium Klorida

Metode kolorimetri aluminium klorida merupakan salah satu teknik analisis yang paling sering digunakan untuk menentukan kandungan flavonoid total dalam ekstrak tanaman. Prinsip metode ini didasarkan pada pembentukan kompleks stabil antara aluminium klorida (AlCl_3) dengan gugus fungsi pada molekul flavonoid, khususnya gugus keto C-4 serta gugus hidroksil C-3 atau C-5 pada flavon dan flavonol. Kompleks yang terbentuk menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 510 nm (Cong-Hau *et al.*, 2021). Intensitas warna yang muncul berbanding lurus dengan konsentrasi flavonoid sehingga kadar dapat

ditentukan secara kuantitatif dengan flavonoid standar, seperti kuersetin. Metode ini dinilai sederhana, spesifik, dan andal sehingga banyak digunakan dalam penelitian fitokimia. Keunggulan tersebut menjadikan metode ini relevan baik untuk studi dasar maupun pengembangan produk berbasis tanaman (Shraim *et al.*, 2021).

2.7 Kadar Total Tanin

Kandungan tanin total atau *Total Tannin Content* merujuk pada jumlah keseluruhan senyawa tanin yang terdapat dalam suatu sampel. Tanin merupakan senyawa polifenol yang mampu mengikat serta mengendapkan protein maupun makromolekul lain, sehingga berperan penting dalam mekanisme pertahanan tanaman. Senyawa ini juga berkontribusi terhadap rasa sepat pada makanan dan minuman yang berasal dari tumbuhan. Penentuan kadar tanin sangat penting dalam ilmu pangan, farmakologi, maupun kimia tanaman karena tanin memengaruhi kualitas nutrisi, bioaktivitas, serta sifat sensori bahan (Sharma *et al.*, 2023). Biasanya, kandungan tanin dinyatakan dalam ekuivalen asam tanat atau senyawa standar sejenis setelah melalui analisis kolorimetri atau kromatografi. Dengan mengukur total tanin, dapat diperoleh gambaran mengenai nilai fungsional sekaligus potensi aplikatif suatu bahan alam (Dhianawaty *et al.*, 2022).

Metode untuk menentukan kadar tannin total sangat beragam, mulai dari teknik kolorimetrik sederhana hingga teknologi instrumentasi maju. Metode uji kadar total tanin diantaranya yaitu presipitasi gelatin, *folin-ciocalteu*, *folin-denis*, *vanillin-HCl*, *Butanol-HCl* (Wardatun *et al.*, 2025; Yu *et al.*, 2023; Yumita, 2023). Salah satu metode umum adalah menggunakan reagen Folin–Ciocalteu reagent atau metode asam tanat dimana absorbansi larutan ekstrak diukur pada panjang gelombang tertentu setelah reaksi fenolik, kemudian dinyatakan sebagai ekuivalen asam tanat (Tannic Acid Equivalent, TAE) per gram sampel (Lahare *et al.*, 2021). Selain itu, metode presipitasi protein seperti metode *Protein Precipitation Assay* (menggunakan protein seperti BSA/gelatin) mengukur kapasitas pengendapan tannin dengan protein dan sering dikombinasikan dengan analisis turunan atau

spektrofotometri (Hensen *et al.*, 2020). Metode lain yang lebih mutakhir yaitu spektroskopi inframerah/dekat-inframerah (NIR) atau modellisasi berbasis pencitraan dan spektroskopi untuk estimasi cepat tannin tanpa reagen kimia, seperti yang diterapkan pada biji sorgum (Wang *et al.*, 2021).

2.7.1 Metode Presipitasi Gelatin

Metode presipitasi protein menggunakan gelatin mengukur tannin total secara diferensial dengan prinsip bahwa tanin (khususnya condensed tannins) akan membentuk kompleks dengan protein sehingga mengendap; secara praktis ekstrak sampel terlebih dahulu diuji untuk fenolik total (mis. *Folin–Ciocalteu*), kemudian alikuot lain diperlakukan dengan larutan gelatin untuk mempresipitasi tannin, supernatan yang mengandung fenolik non-tanin diukur kembali, dan kandungan tannin dihitung sebagai selisih antara fenolik total dan fenolik non-tanin (diekspresikan sebagai mg tannic acid equivalents per g sampel) (Canuti *et al.*, 2020; Das *et al.*, 2020).

Keakuratan dan reproduksibilitas metode sangat bergantung pada parameter eksperimental yaitu jenis dan konsentrasi protein presipitan, rasio protein berupa sampel, pH, komposisi pelarut, waktu inkubasi, serta kondisi pemisahan (sentrifugasi/filtrasi), sehingga optimasi dan validasi untuk tiap matriks sampel dianjurkan (Fraga-Corral *et al.*, 2021). Selain itu, faktor eksternal seperti keberadaan ion logam dapat mempengaruhi efisiensi presipitasi (mis. dengan memperkuat pembentukan jembatan antara tanin dan protein), sehingga interpretasi hasil harus mempertimbangkan keterbatasan metode dan apabila mungkin dikonfirmasi dengan teknik komplementer seperti HPLC untuk karakterisasi tipe tannin (Zhang *et al.*, 2023; Das *et al.*, 2020).

2.8 Peradangan (Inflamasi)

Peradangan merupakan suatu proses biologis yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tubuh ketika menghadapi rangsangan berbahaya, seperti infeksi kuman, kerusakan sel, maupun iritasi dari luar. Proses ini ditandai oleh aktivasi sistem imun yang terkoordinasi dengan tujuan menghilangkan penyebab awal kerusakan, membersihkan jaringan mati atau sel yang rusak, serta memulai proses perbaikan jaringan. Peradangan dapat terjadi dalam dua bentuk, yaitu akut dan kronis. Peradangan akut biasanya berhenti setelah faktor penyebab dihilangkan dan kondisi tubuh kembali seimbang (homeostasis). Sebaliknya, peradangan kronis berlangsung lebih lama, tidak terkontrol, dan dapat berkontribusi terhadap perkembangan berbagai penyakit serius, termasuk gangguan autoimun dan penyakit degeneratif saraf. Pemahaman yang mendalam tentang peradangan sangat penting, karena mekanisme ini dapat bersifat protektif sekaligus merusak bila tidak terkendali (Chen *et al.*, 2017).

Respon peradangan dimulai ketika reseptor pengenalan pola (*pattern recognition receptors*/PRRs) pada sel imun mendeteksi adanya molekul khas patogen (*pathogen-associated molecular patterns*/PAMPs) atau molekul yang dilepaskan akibat kerusakan sel (*damage-associated molecular patterns*/DAMPs). Pengenalan ini kemudian mengaktifkan rangkaian sinyal intraseluler yang melibatkan enzim kinase dan faktor transkripsi, seperti NF- κ B dan AP-1, yang mengatur produksi mediator peradangan berupa sitokin dan kemokin. Mediator inilah yang memicu pelebaran pembuluh darah, peningkatan permeabilitas kapiler, serta perekrutan leukosit menuju lokasi cedera atau infeksi. Selain itu, senyawa radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) juga dihasilkan dalam proses ini. ROS berperan sebagai molekul sinyal yang memperkuat mekanisme peradangan, namun bila jumlahnya berlebihan dapat merusak sel normal di sekitarnya. Dengan demikian, keseimbangan antara aktivasi dan regulasi mekanisme peradangan sangat menentukan apakah kondisi ini akan berakhir dengan pemulihan atau justru berkembang menjadi kerusakan jaringan kronis (Gaikwad *et al.*, 2025).

demam, dan peradangan. Inhibitor selektif COX-2 kemudian dikembangkan untuk mengurangi peradangan sekaligus meminimalkan efek samping pada saluran pencernaan yang sering terjadi akibat penghambatan COX-1. Pemahaman tentang mekanisme kerja ini membantu tenaga medis dalam memilih terapi yang paling sesuai dengan kondisi pasien, serta mengurangi risiko efek samping yang tidak diinginkan (Okpala *et al.*, 2025).

Secara spesifik mekanisme kerja molekuler antiinflamasi pada senyawa bioaktif, umumnya melibatkan penghambatan jalur pensinyalan proinflamasi sekaligus meningkatkan mediator antiinflamasi. Senyawa seperti kuersetin terbukti mampu menekan aktivasi NF- κ B, MAPK, dan NLRP3 inflammasome, yang berperan penting dalam produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Selain itu, juga dapat meningkatkan ekspresi sitokin antiinflamasi, termasuk IL-4 dan IL-10, sehingga terjadi keseimbangan respon imun yang lebih terkontrol. Aktivitas tersebut tidak hanya mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan, tetapi juga mendukung pemulihan fungsi seluler melalui efek antioksidan dan proteksi terhadap stres oksidatif. Dengan mekanisme ini, berpotensi besar sebagai kandidat terapi dalam berbagai kondisi peradangan, baik pada sistem saraf, pernapasan, pencernaan, maupun kulit (Aggarwal *et al.*, 2025).

Metode Uji aktivitas antiinflamasi diantaranya yaitu denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA), denaturasi protein *egg albumin*, *Stabilisasi membran human red blood cell (HRBC)* (Peiris *et al.*, 2025). Metode *Bovine Serum Albumin* (BSA) digunakan untuk menilai aktivitas antiinflamasi dengan prinsip dasar bahwa proses inflamasi umumnya melibatkan denaturasi protein, termasuk albumin. Pada uji *in vitro* ini, senyawa antiinflamasi dievaluasi berdasarkan kemampuannya menghambat denaturasi BSA yang dipicu oleh panas. Paparan panas menyebabkan BSA mengalami perubahan struktur (denaturasi), namun senyawa dengan sifat antiinflamasi dapat menstabilkan protein sehingga kerusakan tersebut dapat dicegah. Tingkat penghambatan terhadap denaturasi BSA kemudian diukur dan

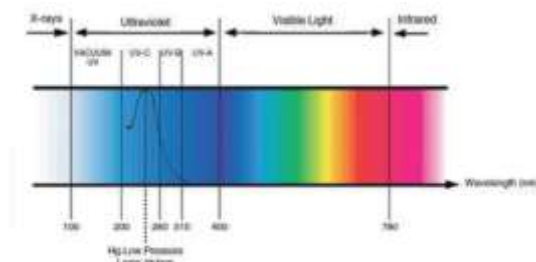
dijadikan indikator potensi efek antiinflamasi dari suatu zat. Metode ini banyak digunakan karena bersifat sederhana, cepat, serta tidak melibatkan hewan uji, sehingga efektif sebagai alat skrining untuk mengidentifikasi senyawa atau ekstrak yang berpotensi memiliki aplikasi terapeutik dengan cara melindungi protein dari kerusakan akibat kondisi stres (M *et al.*, 2023).

2.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah suatu teknik analisis yang digunakan untuk mengukur jumlah cahaya yang diserap, ditransmisikan, dipantulkan, atau dipancarkan oleh suatu zat berdasarkan panjang gelombangnya. Metode ini bekerja dengan membandingkan intensitas cahaya sebelum dan sesudah berinteraksi dengan sampel, sehingga dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi maupun sifat optik dari sampel tersebut. Karena sifatnya yang presisi dan tidak merusak, spektrofotometri banyak dimanfaatkan dalam penelitian kimia maupun biologi, baik untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif. Keunggulan lain dari teknik ini adalah kemampuannya memberikan data yang akurat dengan prosedur yang relatif sederhana. Oleh sebab itu, spektrofotometri menjadi salah satu metode standar dalam laboratorium modern untuk mendukung proses penelitian maupun pengendalian mutu (Dadi & Yasir, 2022).

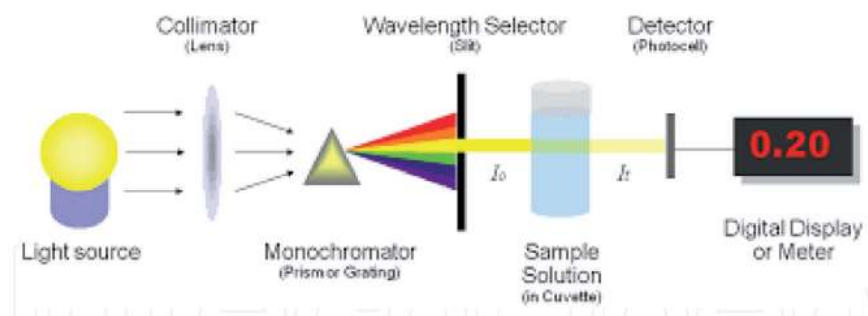
Spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada prinsip bahwa molekul dapat menyerap cahaya pada daerah *ultraviolet* (sekitar 185-400 nm) dan cahaya tampak (sekitar 400-700 nm) dalam spektrum elektromagnetik. Penyerapan cahaya ini menyebabkan terjadinya transisi elektron dari keadaan dasar berenergi rendah menuju keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Panjang gelombang tertentu yang diserap sesuai dengan struktur elektronik molekul, terutama bagian kromofor yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik. Intensitas cahaya yang diserap pada tiap panjang gelombang kemudian digunakan untuk merepresentasikan konsentrasi molekul penyerap

dalam sampel, sesuai dengan hukum *Beer-Lambert*. Dengan prinsip ini, metode UV-Vis menjadi sangat penting dalam mengidentifikasi dan mengukur kandungan suatu senyawa secara akurat (More *et al.*, 2025).



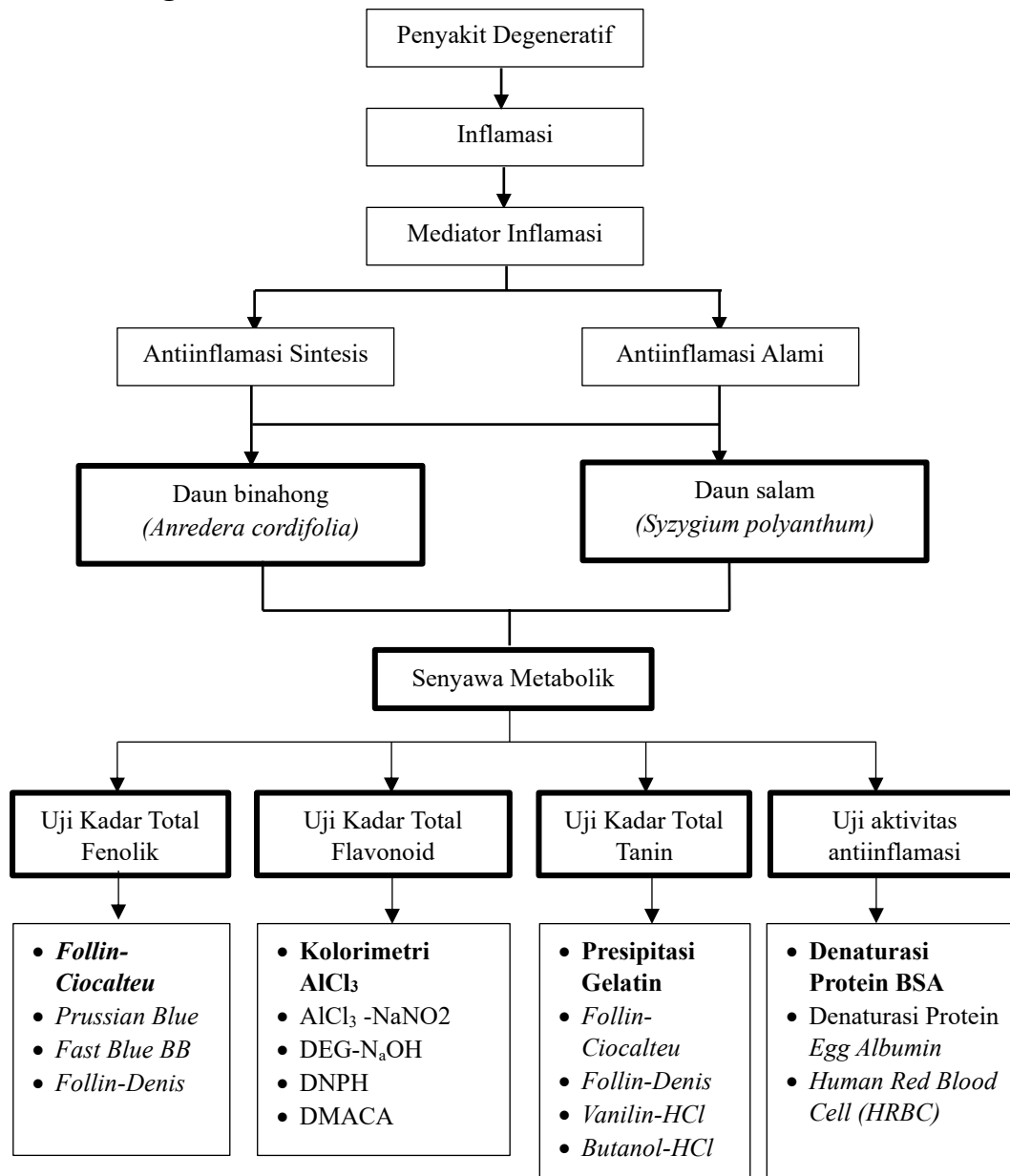
Gambar 10. Spektrum Elektromagnetik (Dadi & Yasir, 2022)

Sebuah spektrofotometer UV-Vis umumnya terdiri dari beberapa komponen utama, antara lain sumber radiasi yang memancarkan cahaya UV dan tampak seperti lampu deuterium atau tungsten, sistem monokromator atau filter untuk mengisolasi panjang gelombang tertentu, tempat sampel berupa kuvet yang biasanya terbuat dari kuarsa agar tidak menyerap sinar UV, serta detektor seperti tabung fotomultiplier yang berfungsi mengubah cahaya yang ditransmisikan menjadi sinyal listrik. Hasil pengukuran kemudian ditampilkan melalui sistem keluaran berupa nilai absorbansi atau transmitansi. Instrumen modern sering dilengkapi dengan desain optik satu berkas maupun ganda untuk membandingkan sinyal sampel dengan referensi, sehingga akurasi hasil lebih terjamin. Perkembangan teknologi terkini bahkan memungkinkan alat ini terhubung dengan perangkat lunak komputer untuk analisis data yang lebih cepat dan efisien (More *et al.*, 2025).



Gambar 11. Instrumen Dasar Spektrofotometer UV-Vis (Dadi & Yasir, 2022)

2.11 Kerangka Teori



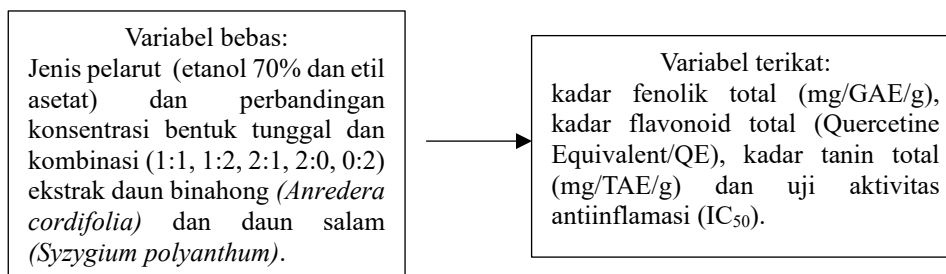
Gambar 12. Kerangka Teori

Keterangan:

: Variabel yang tidak diteliti

: Variabel yang akan diteliti

2.12 Kerangka Konsep



Gambar 13. Kerangka Konsep

2.13 Hipotesis

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

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

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

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

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilakukan untuk mengetahui kadar total fenolik, total flavonoid, total tanin dan aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal maupun kombinasi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat. Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan kadar total fenolik (mg/GAE/g), kadar total flavonoid (*Quercetine Equivalent*/QE) dan kadar total tanin (mg/TAE/g) terhadap aktivitas antiinflamasi (IC₅₀). Pengukuran kadar total fenolik, kadar total flavonoid, kadar total tanin dan aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan menggunakan lima variasi perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 % b/b antara kombinasi ekstrak daun binahong dan daun salam.

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 melakukan determinasi tanaman, Laboratorium Farmasetika FK Unila untuk melakukan pembuatan simplisia kering dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisa FK Unila untuk melakukan proses penguapan ekstrak cair, pengujian total fenolik, flavonoid, dan tanin serta uji aktivitas antiinflamasi.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli hingga Januari 2025.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol vial, erlenmeyer (Pyrex®), pipet volume (Iwaki®), labu ukur (Pyrex®), gelas kimia (Iwaki®), gelas ukur (Pyrex®), batang pengaduk, tabung reaksi (Pyrex®), cawan porselen, toples kaca, chopper/blender, oven, kuvet (Shimadzu®), spektrofotometer UV – Vis (Shimadzu UV-1900i®), *Ultrasonic Cleaner Bath*, corong (Pyrex®), kertas saring, timbangan analitik (Shimadzu®), aluminium foil, dan *rotary evaporator* (BUCHI®), *waterbath*, mikropipet.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong dan daun salam, etanol 70%, aquades, asam galat (Merck®), asam tanat (Sigma-aldrich®), *folin-ciocalteu* (Merck®), natrium karbonat (Merck®), kuersetin (Sigma-aldrich®), NaNO₂ (natrium nitrit) (Merck®), AlCl₃ (aluminium klorida) (Merck®), FeCl₃ (Feri klorida) (Merck®), NaOH (natrium hidroksida) (Merck®), n-heksan, etil asetat, NaCl (natrium klorida), Magnesium (Merck®), CH₃COOH (asam asetat glasial), *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Sigma-aldrich®), dan natrium diklofenak.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis pelarut (etanol 70% dan etil asetat) dan perbandingan konsentrasi bentuk tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) .

3.4.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini terdiri dari kontrol positif pada uji total fenolik yaitu asam galat, uji total flavonoid yaitu kuersetin, uji total tanin yaitu asam tanat, dan uji aktivitas antiinflamasi yaitu natrium diklofenak.

3.4.3 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar fenolik total (mg/GAE/g), kadar flavonoid total (*Quercetine Equivalent*/QE), kadar tanin total (mg/TAE/g) dan uji aktivitas antiinflamasi (IC₅₀).

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini dijelaskan pada **Tabel 1.** dibawah ini.

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel bebas				
Jenis pelarut pada kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) .	Jenis pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 70% dan etil asetat.	Melihat nilai polaritas dari tiap pelarut	Jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda	Ordinal
Variasi perbandingan dosis tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) .	Perbandingan dosis tunggal dan kombinasi ekstrak etanol 70% dan etil asetat daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dengan	Menimbang ekstrak dengan menggunakan neraca analitik	Perolehan dosis 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,	Rasio

	perbandingan 1:1, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 b/b (mg)		2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 b/b (mg).	
Variabel terikat				
Kadar fenolik total	Jumlah total senyawa fenolik yang diperoleh pada dosis tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Menggunakan metode Folin – Ciocalteu 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 dosis tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>). .	Menggunakan metode kolorimetri untuk mengukur kadar senyawa flavonoid yang ada pada kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).	Kadar flavonoid total dengan pembanding kuersetin (Quercetine Equivalent/QE)	Rasio
Kadar tanin total	Jumlah total senyawa tanin yang diperoleh pada dosis tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun salam	Menggunakan metode presipitasi gelatin untuk mengukur kadar senyawa tanin yang ada pada kombinasi ekstrak daun binahong	Kadar tanin total dengan pembanding asam tanat (mg TAE/g)	Rasio

	<i>(Syzygium polyanthum)</i> ..	<i>(Anredera cordifolia)</i> dan daun salam <i>(Syzygium polyanthum)</i> . .		
Uji aktivitas Antiinflamasi	Nilai yang diperoleh pada dosis Tunggal dan kombinasi ekstrak daun binahong <i>(Anredera cordifolia)</i> dan daun salam <i>(Syzygium polyanthum)</i> dalam menghambat 50% denaturasi protein BSA.	Menggunakan metode denaturasi BSA 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 $IC_{50} 151\text{-}200 \mu\text{g/mL}$ = lemah (Adiprahara Anggarani <i>et al.</i> , 2023).	Interval
Variabel Kontrol				
Asam galat	Asam galat digunakan 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.	Kurva standar asam galat	Rasio
Kuersetin	Kuersetin digunakan	Membuat larutan	Kurva standar kuersetin	Rasio

	sebagai pembanding karena merupakan senyawa yang penyebarannya paling luas pada tumbuhan (Tommy <i>et al.</i> , 2022).	stok kuersetin yang nantinya akan diukur absorbansinya pada spektrometer UV-Vis.		
Gelatin	Gelatin digunakan 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 tanin	Rasio
Natrium diklofenak	Natrium diklofenak digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah satu obat yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi (Fadlilaturrah	Membuat larutan stok natrium diklofenak yang nantinya akan diukur absorbansinya pada spektrometer UV-Vis.	Nilai IC ₅₀ dari natrium diklofenak dengan keterangan: IC ₅₀ < 50 µg/mL = sangat kuat IC ₅₀ 50-100 µg/mL = kuat IC ₅₀ 101-150 µg/mL = sedang IC ₅₀ 151-200 µg/mL =	Rasio

mah *et al.*, 2022)

lemah
(Adiprahara
Anggarani *et al.*,
2023).

3.6 Prosedur Penelitian

Prosedur dari penelitian ini dijelaskan pada tahapan di bawah ini dan akan dilampirkan dalam bentuk diagram pada **Gambar 14**.

3.6.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh di Kec. Tanjung Karang Barat, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung.

3.6.2 Uji Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Dalam pembuatan simplisia, diambil sebanyak 10 kg daun binahong dan 10 kg daun salam, kemudian dibersihkan dari ranting-rantingnya. Setelah itu, daun-daun tersebut dicuci di bawah air mengalir hingga seluruh kotoran yang menempel hilang. Proses selanjutnya adalah pengeringan daun dengan cara dijemur di bawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah pengeringan awal, daun kembali dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai benar-benar kering. Daun yang telah kering kemudian disortir untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih ada, lalu

dihaluskan menggunakan *blender* hingga diperoleh serbuk simplisia (Raharjo *et al.*, 2025).

1. Penetapan Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong dan daun salam dilakukan dengan cara menimbang serbuk sebanyak 1 gram. Susut pengeringan diukur dengan alat *Moisture Balance* kemudian dipanaskan pada suhu 105°C (Ningtyas & Erwiyani, 2019).

3.6.4 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi daun binahong dan daun salam dilakukan dengan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan antara simplisia kering dan pelarut sebesar 1:10 (b/v) (Aditya *et al.*, 2022; Sjahid *et al.*, 2020).

1. Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Salam

Daun binahong dan daun salam dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode UAE (*Ultrasound-Assisted Extraction*) yang telah dilakukan oleh Aditya *et al.* 2022 dan Sjahid *et al.* 2020 dengan modifikasi. Serbuk simplisia sebanyak 25 gram direndam dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 dalam *erlenmeyer*, kemudian diekstraksi menggunakan *ultrasonic cleaning bath* pada frekuensi 40 Khz selama 30 menit pada suhu 40°C. Campuran hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring, lalu filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan 70 rpm untuk menghilangkan pelarut (Aditya *et al.*, 2022).

2. Rendemen Ekstrak

Perhitungan rendemen dilakukan dengan menghitung persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia. Perhitungan rendemen diperlukan sebagai indikator pengaruh pelarut atau kondisi ekstraksi (Tayone & Rosario, 2017). Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus sebagai berikut (Ngamkhae *et al.*, 2022)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{W1 \text{ (Massa ekstrak yang dihasilkan)}}{W2 \text{ (Massa Simplisia)}} \times 100\%$$

3. Penetapan Kadar Air

Penetapan Kadar Air dengan Moisture Analyzer dilakukan dengan menimbang sebanyak 3 gram sampel ekstrak, dimasukkan ke dalam piringan alat moisture analyzer. Suhu diatur pada 105°C dan proses pengukuran dimulai. Tunggu hingga alat menunjukkan hasil kadar air dalam satuan persen (%). Berdasarkan keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (KEPMENKES RI), syarat kadar air harus kurang dari 10% (Saraswati *et al.*, 2025)

3.6.5 Uji Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui apakah ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung metabolit sekunder atau tidak maka perlu dilakukan uji skrining fitokimia sebagai berikut:

a. Uji Saponin

Dalam uji saponin diambil 2 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan beberapa tetes timbal asetat. Munculnya endapan putih menunjukkan adanya saponin (Ahmed *et al.*, 2020)

b. Uji Alkaloid

Diambil 1 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL larutan kalium merkuri iodida (reagen Mayer) lalu dikocok. Terbentuknya endapan berwarna putih atau krem menunjukkan adanya alkaloid (Abubakar & Haque., 2020).

c. Uji Flavonoid

Diambil 1 mL ekstrak ke dalam tabung reaksi. Kemudian, beberapa tetes larutan NaOH (Natrium hidroksida) ditambahkan dan dikocok. Munculnya warna kuning pekat yang berubah menjadi tidak berwarna setelah penambahan asam encer menunjukkan adanya flavonoid (Kancherla *et al.*, 2019).

d. Uji Fenolik

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL FeCl_3 1% (positif jika menghasilkan warna biru tua) (Kancherla *et al.*, 2019)

e. Uji Tanin

Sampel ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan 1 ml FeCl_3 . Positif tanin ditandai dengan munculnya warna hijau kehitaman (Rahimah *et al.*, 2019).

f. Uji Terpenoid dan Steroid

Diambil 3 ml ekstrak lalu dicampur dengan 1 ml kloroform dan 1 ml asam sulfat pekat, adanya warna merah-coklat intens yang menunjukkan adanya terpenoid (Sankhalkar & Vernekar, 2016). Srdangkan untuk uji steroid sebanyak 50 mg sampel diekstraksi dengan kloroform, kemudian disaring. Hasil penyaringan ditambahkan 1-2 ml anhidrida asetat dan 2 tetes asam sulfat pekat dari sisi tabung.

Apabila terbentuk warna merah, kemudian biru, dan kemudian hijau menunjukkan adanya steroid (Rahimah *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, 1:2, 2:1, 1:0, dan 0:1 % b/b seperti pada **Tabel 2** (Suprijono & Wulan S., 2022).

Tabel 2. Perbandingan Kombinasi Daun Binahong dan Daun Salam

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

3.6.7 Uji Kadar Total Fenolik

Analisis kadar total fenolik dilakukan dengan menggunakan metode *Folin-ciocalteu* (Susanti, 2019). Tahapan uji fenolik total ini meliputi pembuatan larutan baku asam galat, pembuatan kurva baku asam galat dan pengukuran kadar total fenolik menggunakan spektrofotometer UV – Vis. Langkah-langkah pengujian kadar total fenolik adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan baku induk asam galat

Dibuat larutan baku induk asam galat 500 ppm dengan cara 50 mg asam galat dilarutkan dengan etanol 96% hingga volume 100 mL. Dilakukan pengenceran dari larutan induk yang sudah dibuat dengan konsentrasi 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol hingga tanda batas (Sam *et al.*, 2016).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum asam galat dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 mL reagen *Folin Ciocalteau* ke dalam masing – masing konsentrasi 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm dalam labu ukur 10 ml kemudian dikocok dan diinkubasi selama 8 menit, selanjutnya tambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan dikocok hingga homogen. Tambahkan aquades hingga tanda batas 10 mL dan diinkubasi kembali selama 45 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-800 nm untuk membuat kurva kalibrasinya sehingga diketahui hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan nilai absorbansi (Sam *et al.*, 2016).

3. Pembuatan kurva baku asam galat

Diambil sebanyak 0,5 ml dari masing - masing konsentrasi 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm larutan asam galat, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Tambahkan 0,5 ml reagen *folin-ciocalteu* ke dalam labu ukur lalu dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 8 menit pada suhu ruang. Setelah itu, tambahkan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 4 ml dan aquadest hingga volume larutan menjadi 10 ml, lalu dihomogenkan kembali dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang 765 nm untuk membuat kurva baku asam galat (Rahmah *et al.*, 2022).

4. Pengukuran kadar total fenolik menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Kadar total fenolik diukur menggunakan spektrofotometer dengan reagen *Folin-ciocalteu*. Ekstrak etanol 70% dan etil asetat dari daun binahong dan daun salam dibuat kombinasi dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 2:0, dan 0:2 %b/b. 1 ml sampel ekstrak ditambahkan 0,4 ml reagen *Folin - Ciocalteu* lalu dikocok dan didiamkan selama

8 menit. Campuran lalu ditambahkan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 4 ml dan aquadest hingga volume larutan menjadi 10 ml, lalu dihomogenkan kembali dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, absorbansi sampel dideteksi pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali replikasi (Pérez *et al.*, 2023).

3.6.8 Uji Kadar Total Flavonoid

Analisis terhadap kadar total flavonoid dilakukan dengan metode yang telah dilakukan oleh Benjamaa, R. (2024) dengan modifikasi. Dalam pengujian ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding dan reagen AlCl_3 . Tahapan dalam pengujian ini yaitu pembuatan larutan baku induk kuersetin, penetapan Panjang gelombang maksimum kuersetin, pembuatan kurva baku kuersetin, dan penetapan kadar total flavonoid. Langkah-langkah pengujian kadar total flavonoid adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan baku induk kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 50 mg kuersetin menggunakan etanol ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 50, 60, 70, 80 dan 100 ppm dari larutan baku induk kuersetin ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol sampai tanda batas (Masykuroh & Ummah, 2024).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan cara diambil larutan induk kuersetin sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml AlCl_3 10 % dan 0,1 ml kalium asetat 0,1 M. Kemudian campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya dan diukur absorbansinya

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-600 nm (Benjamaa *et al.*, 2024).

3. Pembuatan kurva baku kuersetin

Dalam pembuatan kurva baku kuersetin, diambil sebanyak 1 ml larutan baku induk kuersetin pada masing-masing konsentrasi 50, 60, 70, 80 dan 100 ppm. Kemudian ditambahkan 1 ml AlCl 10 % dan 0,1 ml kalium asetat 0,1 M dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya. Setelah diinkubasi, campuran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm (Benjamaa *et al.*, 2024).

4. Penetapan Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Eksrak tanaman dibuat larutan kombinasi dengan perbandingan 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1, 2 : 0, dan 0 : 2 % b/b. Masing-masing konsentrasi ekstrak dibuat menjadi 100 ppm dengan cara dilarutkan dengan 30 ml etanol. Setiap konsentrasi ekstrak diambil sebanyak 1 ml ditambahkan 1 ml AlCl 10 % dan 0,1 ml kalium asetat 0,1 M lalu volumenya disesuaikan hingga 10 ml menggunakan aquadest. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya. Setelah inkubasi selesai, campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 - 425 nm (Benjamaa *et al.*, 2024).

3.6.9 Uji Kadar Total Tanin

Analisis kadar total tanin dilakukan dengan menggunakan metode presipitasi gelatin mengikuti metode yang dijelaskan oleh (Wardatun *et al.*, 2024). Tahapan uji total tanin ini meliputi pembuatan larutan baku, pembuatan larutan sampel, pengukuran total polifenol, Pengukuran polifenol tanpa tanin dan perhitungan kadar total tanin. Langkah-langkah pengujian kadar total tanin adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan baku

Larutan baku dibuat dengan cara 1 mL Folin Ciocalteu 10% dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 2 mL Na_2CO_3 20%, kemudian ditambahkan aquadest hingga batas. Larutan dikocok, diinkubasi selama 90 menit pada suhu ruang. Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600-800 nm (Mirsad *et al.*, 2021).

2. Pembuatan larutan sampel

Eksrak tanaman dibuat larutan kombinasi dengan perbandingan 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1, 2 : 0, dan 0 : 2 % b/b. Masing-masing konsentrasi dibuat dalam dua labu ukur yang berbeda. Labu ukur diberi label A dan B, labu A digunakan untuk mengukur total polifenol (termasuk tanin) sedangkan labu B digunakan untuk mengukur polifenol tanpa tanin (Wardatun., S., *et al.* 2024).

3. Pengukuran total polifenol

Dalam labu ukur A, diencerkan 1 ml larutan ekstrak dengan etanol hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Kemudian, 1 mL larutan ekstrak dipipet dari labu A dan ditambahkan dengan 1 mL *Folin-Ciocalteu* 10% dan 2 mL larutan Na_2CO_3 20%, lalu ditambah dengan aquadest dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas. Larutan dikocok dan diinkubasi 90 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 745 nm (Wardatun., S., *et al.* 2024).

4. Pengukuran total polifenol tanpa tanin

Dalam labu ukur B, 1 ml larutan ekstrak dipipet lalu ditambahkan dengan 5 ml gelatin 1% dan diencerkan dengan etanol. Larutan diinkubasi hingga timbul endapan pada larutan. Larutan yang mengendap kemudian disaring untuk mendapatkan larutan bebas

tanin. Selanjutnya, 1 ml larutan dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan diberi perlakuan seperti prosedur pada tabung A. Kurva kalibrasi dibuat dengan menggunakan konsentrasi asam galat sebagai standar (Wardatun., S., *et al.* 2024).

5. Perhitungan kadar tanin

Kadar tanin dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini:

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

Keterangan: :

C_a = Konsentrasi total polifenol.

C_b = Konsentrasi polifenol tanpa tanin.

3.7.10 Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang telah dilakukan oleh Bensaad, M. S., *et al.*, (2022) dengan modifikasi. Tahapan pada uji aktivitas antiinflamasi dijelaskan sebagai berikut:

1. Pembuatan 0,2% *Bovine Serum Albumin* (BSA)

Pembuatan BSA 0,2% dilakukan dengan cara melarutkan 0,2 gram *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan 100 mL *Buffer Tris-HCl* (Bensaad, M. S., *et al.*, 2022).

2. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif (0,5 ml) terdiri dari 0,45 ml *Bovine Serum Albumin* (0,2% b/v) dan 0,05 ml pelarut (Firdaus *et al.*, 2024).

3. Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol Positif

Larutan uji (0,5 ml) terdiri dari 0,45 ml *Bovine Serum Albumin* (larutan berair 0,2% b/v) dan 0,05 ml larutan uji dengan berbagai konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100 µg/ml). Larutan kontrol positif (0,5

ml) terdiri dari 0,45 ml *Bovine Serum Albumin* (0,2% b/v) dan 0,05 ml natrium diklofenak dengan berbagai konsentrasi (2, 4, 6, 8, 10 µg/ml) (Ashwini *et al.*, 2022).

4. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Sebanyak 0,05 ml berbagai konsentrasi konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100 µg/ml) sampel uji dan obat standar natrium diklofenak (2, 4, 6, 8, 10 µg/ml) masing-masing diambil dan dicampurkan sebanyak 0,45 ml (0,2% b/v BSA). Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit dan suhu dinaikkan untuk mempertahankan sampel pada suhu 57°C selama 3 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 600 nm (Chafaa *et al.*, 2024; Lekmine *et al.*, 2021).

5. Perhitungan Persentase

Persentase penghambatan denaturasi protein dapat dihitung sebagai berikut.

$$\text{Persen Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs Kontrol Uji}}{\text{Abs Kontrol negatif}}$$

Keterangan:

Abs: Absorbansi

3.7 Pengolahan dan Analisis Data

Data kadar fenolik total, kadar flavonoid total, tanin total dan aktivitas antiinflamasi dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dengan uji *Saphiro – Wilk*. Data terdistribusi normal apabila nilai probabilitas lebih dari 0,05 (Paramasivam., *et al.* 2024). Analisis data dilanjutkan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan kadar dari masing-masing kelompok dengan uji *one – way ANOVA* apabila data terdistribusi normal dan uji *Kruskal – wallis* apabila data tidak terdistribusi normal (Ate *et al.*, 2019).

Analisis data dilanjutkan dengan uji korelasi untuk melihat hubungan antara kadar total fenolik, flavonoid total dan tanin total dengan nilai IC_{50} pada uji aktivitas antiinflamasi. Uji korelasi pearson dipilih apabila data terdistribusi normal dan uji spearman apabila data tidak terdistribusi normal. Nilai uji korelasi yang didapatkan kemudian dikelompokkan menjadi beberapa kategori seperti pada **Tabel 3** (Schober & Schwarte, 2018). Analisis data pada penelitian ini dilakukan pada taraf kepercayaan 95% (Pruekpramool., *et al.* 2020).

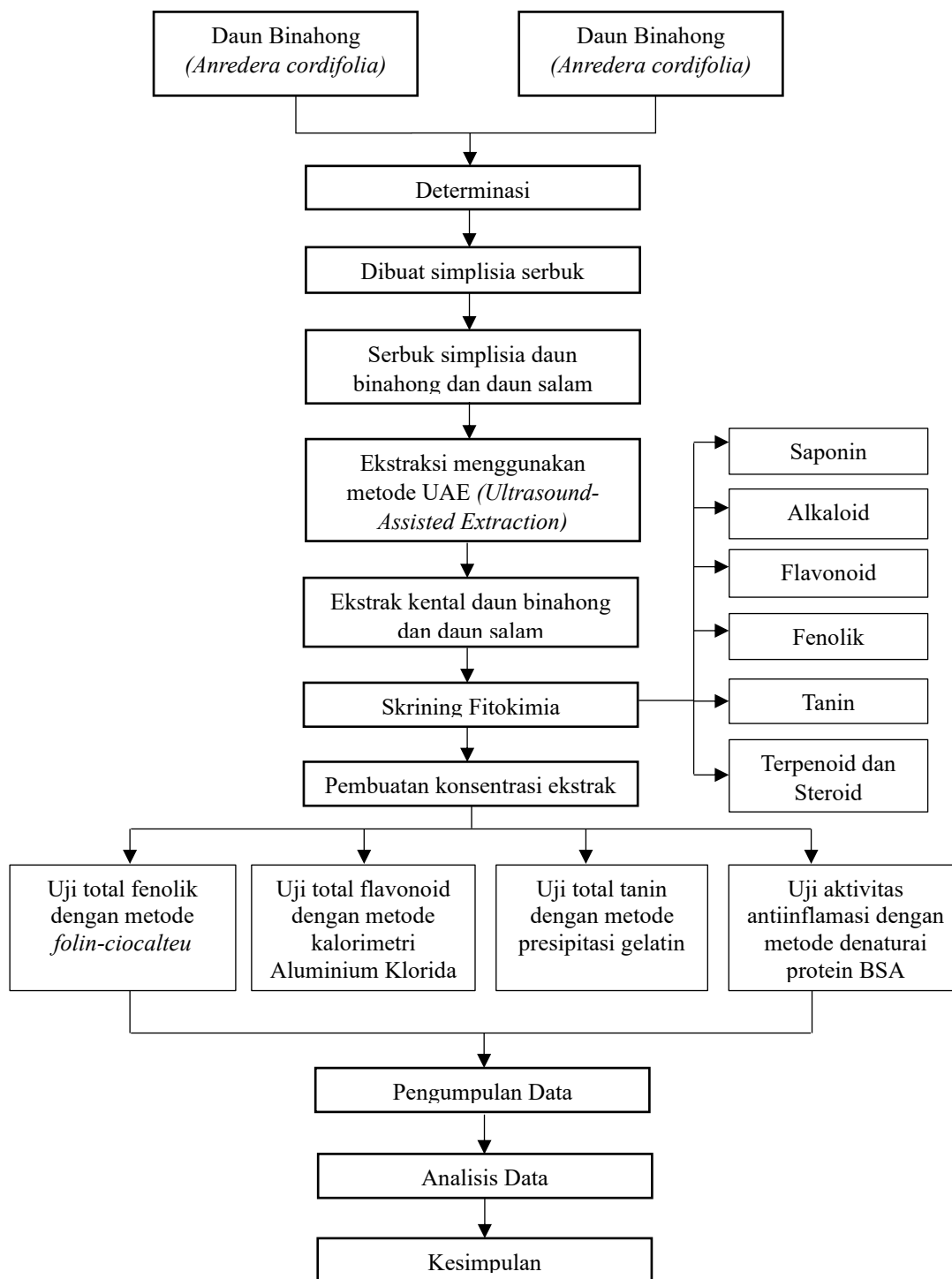
Tabel 3. Tabel Nilai Koefisien Korelasi (Schober & Schwarte, 2018)

Nilai Koefisien Korelasi	Interpretasi
0,00-0,10	Korelasi dapat diabaikan
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 mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik yaitu 75/UN26.18/PP.05.02.00/2026 yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 14. Alur Penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

5.1.1 Pada pelarut etanol 70% kadar total fenolik menunjukkan nilai pada rentang 391,167-795,433 mg GAE/g dengan kadar tertinggi diperoleh pada ekstrak tunggal daun salam (0:2) yaitu 795,433 mg GAE/g ekstrak, sedangkan pada pelarut etil asetat kadar total fenolik menunjukkan nilai pada rentang 328,167-428,400 mg GAE/g ekstrak dengan kadar tertinggi diperoleh pada ekstrak tunggal daun salam (0:2) yaitu 428,400 mg GAE/g ekstrak. Kadar total flavonoid pada etanol 70% menunjukkan nilai pada rentang 223,3-348,2 mg QE/g ekstrak dengan kadar tertinggi terdapat pada kombinasi 1:1 yaitu 348,2 mg QE/g ekstrak, sedangkan pada etil asetat menunjukkan nilai pada rentang 166,1-487,6 mg QE/g ekstrak dengan kadar tertinggi pada ekstrak tunggal daun salam (0:2) yaitu 487,6 mg QE/g ekstrak. Kadar total tanin pada etanol 70% menunjukkan nilai pada rentang 205,867-536,9 mg TAE/g ekstrak dengan kadar tertinggi pada kombinasi 1:2 yaitu 536,9 mg TAE/g ekstrak, sedangkan pada etil asetat menunjukkan nilai pada rentang 139,367-222,533 mg TAE/g ekstrak dengan kadar tertinggi pada kombinasi 1:2 yaitu 222,53 mg TAE/g ekstrak.

5.1.2 Aktivitas antiinflamasi (nilai IC_{50}) dari ekstrak etanol 70% dan ekstrak etil asetat daun binahong dan daun salam dengan perbandingan 0:2, 2:0, 1:1, 1:2, dan 2:1 menunjukkan variasi aktivitas yang berbeda. Pada ekstrak etanol 70%, nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 15,546 $\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat), 149,273 $\mu\text{g/mL}$ (sedang), 53,163 $\mu\text{g/mL}$ (kuat), 33,506 $\mu\text{g/mL}$ (sangat

kuat), dan 137,06 $\mu\text{g/mL}$ (sedang). Sementara itu, pada ekstrak etil asetat diperoleh nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 27,37 $\mu\text{g/mL}$ (sangat kuat), 171,97 $\mu\text{g/mL}$ (lemah), 98,533 $\mu\text{g/mL}$ (kuat), 58,946 $\mu\text{g/mL}$ (kuat), dan 140,513 $\mu\text{g/mL}$ (sedang).

5.1.3 Berdasarkan hasil analisis statistik, diperoleh bahwa terdapat hubungan antara kadar total fenolik, kadar total flavonoid, dan kadar total tanin dengan aktivitas antiinflamasi (IC_{50}). Secara umum, koefisien korelasi menunjukkan hubungan negatif, yang berarti peningkatan kadar senyawa tersebut diikuti dengan penurunan nilai IC_{50} . Namun, kadar total flavonoid pada ekstrak etil asetat menunjukkan korelasi positif terhadap nilai IC_{50} , yang mengindikasikan bahwa peningkatan kadar flavonoid tidak selalu diikuti oleh peningkatan aktivitas antiinflamasi.

5.2 Saran

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

- 5.2.1 Perlu dilakukannya standarisasi ekstrak untuk memastikan kualitas ekstrak yang akan diuji sehingga hasil pengujian dapat lebih baik.
- 5.2.2 Dapat dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi dengan beberapa metode pengujian seperti denaturasi protein egg albumin dan metode stabilitas membran sel darah merah (*Human Red Blood Cell/ HRBC*) untuk memvalidasi hasil penelitian. Penggunaan metode yang berbeda diperlukan karena setiap metode memiliki prinsip dan sensitivitas yang berbeda dalam menggambarkan mekanisme antiinflamasi, sehingga hasil yang diperoleh dapat lebih komprehensif dan akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulrahman, M. D. (2022). *Review of Ethnopharmacology, Morpho-Anatomy, Biological Evaluation and Chemical Composition of Syzygium polyanthum (Wight) Walp.* *Plant Science Today*, 9(1), 167-177.
- Abdulrahman, M., Hasan, & Abdul Manaf. (2018). *Morphological and anatomical Studies of Syzygium polyanthum (Wight) Walp. (Myrtaceae).* *Malayan Nature Journal*, 70(3), 309–322.
- Abraham, A., Samuel, S., & Mathew, L. (2020). *Phytochemical analysis of Pathyashadangam kwath and its standardization by HPLC and HPTLC.* *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(2), 153–158.
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). *Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes.* In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences (Vol. 12, Issue 1, pp. 1–10).* Wolters Kluwer Medknow Publications.
- Aditya, R., Santoso, B., & Widjiati, W. (2022a). *Anti-inflammatory and antioxidant potential of Syzygium polyanthum (Wight) Walp. bioactive compounds in polycystic ovary syndrome: An in silico study.* *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 10(4), 725–736.
- Aditya, R., Santoso, B., & Widjiati, W. (2022b). *Anti-inflammatory and antioxidant potential of Syzygium polyanthum (Wight) Walp. bioactive compounds in polycystic ovary syndrome: An in silico study.* *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 10(4), 725–736.
- Aggarwal, D., Chaudhary, M., Mandotra, S. K., Tuli, H. S., Chauhan, R., Joshi, N. C., Kaur, D., Dufossé, L., & Chauhan, A. (2025). *Anti-inflammatory potential of quercetin: From chemistry and mechanistic insight to nanoformulations.* *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 8, 100217.
- Agustin, P., & Permatasari, I. (2020). *Jurnal Ilmiah M-Progress*. 10(2), 174–184.
- Ahlan Sangkal, Rahmat Ismail, & Nurfatima S. Marasabessy. (2020). *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bintaro (Cerbera manghas L.) Dengan Pelarut Etanol 70%, Aseton dan n-Hexan.* *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(1), 71–81.
- 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.*
- Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, P., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A. S. (2023). *Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management. Metabolites, 13(6), 716.*
- Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., Alessa, F. M., & Al-Mssallem, M. Q. (2022a). *Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. Molecules, 27(9), 2901.*
- Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., Alessa, F. M., & Al-Mssallem, M. Q. (2022b). *Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. Molecules, 27(9).*
- Annas, Z. F., Muliasari, H., Deccati, R. F., Permatasari, L., & Mukhlisah, N. R. I. (2023). *Determination of total flavonoid content of extract and fractions of mangrove leaves (Avicennia marina). Jurnal Agrotek Ummat, 10(3), 271–282.*
- Ashwini, T., Elizabeth, A. A., Aishwarya, S., Josephine, I. G., Brigida, S., & Srinivasan, R. (2022). *Sinapis arvensis-Wild Mustard as an AntiSection inflammatory Agent: An In-vitro Study. Journal of Clinical and Diagnostic Research.*
- Ate, O. T., Putra, I. M. W. A., Kusumawati, I. G. A. W., & Nursini, N. W. (2019). *Analisis Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari ekstrak air kombinasi daun papasan (Coccinia grandis L) dan buah belimbing wuluh (Averrhoa blimbi L). Jurnal Media Sains, 3(2), 57–62.*
- Ayuchecaria, N., Alfiannor Saputera, M. M., & Niah, R. (2020). *Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Batang Bajakah Tampala (Spatholobus littoralis Hassk.) Menggunakan Spektrofotometri UV-VISIBLE. Jurnal Insan Farmasi Indonesia, 3(1), 132–141.*
- 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. (2024a). *Comparative evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, anti-inflammatory, and antibacterial potential of Euphorbia-derived functional products. Frontiers in Pharmacology, 15.*
- 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. (2024b). *Comparative evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, anti-inflammatory, and antibacterial potential of Euphorbia-derived functional products. Frontiers in Pharmacology, 15.*
- Bouhlali, E. dine T., Hmidani, A., Bourkhis, B., Khouya, T., Ramchoun, M., Filali-Zegzouti, Y., & Alem, C. (2020). *Phenolic profile and anti-inflammatory activity*

- of four Moroccan date (*Phoenix dactylifera* L.) seed varieties. *Heliyon*, 6(2), e03436.
- Chafaa, N., Mosbah, C., Khattabi, L., Malaoui, K., Zahnit, W., Smaali, M. E. A., Hourri, F., Medfouni, Y., Al-Anazi, K. M., & Ali, A. (2024). *Algerian Prickly Pear Seed By-Products: Fatty Acids Composition, Antioxidant, Enzyme Inhibitory Activities towards Tyrosinase, Urease, α -Amylase, and Cholinesterase, along with the Ability to Protect from Thermal Protein Denaturation. Pharmaceuticals*, 17(9).
- Chandra, P. P. B. (2025). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 14(3), 325–338.
- Chaves, J. O., de Souza, M. C., da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. da F., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Barbero, G. F., & Rostagno, M. A. (2020). *Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. Frontiers in Chemistry*, 8.
- Cong-Hau, N., Anh-Dao, L.-T., Nhon-Duc, L., & Thanh-Nho, N. (2021). *Spectrophotometric Determination Of Total Flavonoid Contents In Tea Products And Their Liquors Under Various Brewing Conditions* (Penentuan Spektrofotometrik bagi Kandungan Jumlah Flavonoid di dalam Produk Teh dan Arak di Bru pada Keadaan Berbeza). *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 25, 740–750.
- Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., Vilela, A., & Gonçalves, B. (2025). A Comprehensive Review of Bioactive Tannins in Foods and Beverages: Functional Properties, Health Benefits, and Sensory Qualities. *Molecules* 2025, Vol. 30, Page 800, 30(4), 800.
- Dadi, M., & Yasir, M. (2022). *Spectroscopy and Spectrophotometry: Principles and Applications for Colorimetric and Related Other Analysis. Colorimetry*.
- Dhianawaty, D., Atik, N., Gradia Dwiwina, R., & Muda, I. (2022). *Preliminary Identification and Quantification of Four Secondary Metabolites, Total Tannin and Total Flavonoid Contents in Guava Fruit Ethanol Extract. Pharmacognosy Journal*, 14(2), 350–357.
- Dominguez-López, I., Pérez, M., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). *Total (poly)phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(27), 10048.
- Ekambaram, S. P., Aruldas, J., Srinivasan, A., & Erusappan, T. (2022). *Modulation of NF- κ B and MAPK signalling pathways by hydrolysable tannin fraction from Terminalia chebula fruits contributes to its anti-inflammatory action in RAW 264.7 cells. Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 74(5), 718–729. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab178>

- Emilia, I., Andi Arif Setiawan, Dewi Novianti, Dian Mutiara, & Rangga, R. (2023). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Secara Infundasi Dan Maserasi. *Indobiosains*, 95–102.
- Fadlilaturrahmah, F., Amilia, J., Sukmawaty, Y., & Wathan, N. (2022). Identifikasi Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi In vitro Fraksi n- heksana Kapur Naga (*Calophyllum soulattri* Burm F) Dengan Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Pharmascience*, 9(2), 355.
- Firdaus, M. N. A., Kardela, W., & Ifora, I. (2022). *Phytochemical and Anti-Inflammatory Potential of Anredera cordifolia* (Ten): A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(2), 121–125.
- Firdaus, S., Fadli, M. Z., & Bintari, Y. R. (2024). Aktivitas Antiinflamasi melalui Metode Denaturasi BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada Ekstrak Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan Variasi Pelarut. *Journal Of Community Medicine*, 12(1), 1–7.
- Gaikwad, Gitaje, & Dipak. (2025). *View of Mechanisms of Inflammation Associated with Chronic Diseases: A Brief Review*. *Ournal of Advances in Medicine and Medical Research*, 37(3), 48–56.
- Ghani, U. (2020). Terpenoids and steroids. *Alpha-Glucosidase Inhibitors*, 101–117.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. A., Elizalde-Romero, C. A., & Heredia, J. B. (2020). *Plant alkaloids: Structures and bioactive properties*. *Plant-Derived Bioactives: Chemistry and Mode of Action*, 85–117.
- Hanafiah, O. A., Hanafiah, D. S., Dohude, G. A., Satria, D., Livita, L., Moudy, N. S., & Rahma, R. (2022). *Effects of 3% binahong (Anredera cordifolia) leaf extract gel on alveolar bone healing in post-extraction tooth socket wound in Wistar rats (Rattus norvegicus)*. *F1000Research*, 10, 923.
- Hasan, R., Siregar, G. A., & Lindarto, D. (2020). *Syzygium Polyanthum Reduced TNF- α and ADAM17 Protein Expression in Myocardial Infarction Rat Model*. *Medical Archives*, 74(6), 416.
- Hasanah, Y., & Mawarni, L. (2021). *Exploration and identification of Anredera cordifolia morphological characters in the highlands and lowlands*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(6), 2759–2766.
- Hoque, M. B., Ayman, U., Sheikh, M. S., Hannan, M. A., Haque, P., Baria, B., Rahman, M. M., Jalil, M. A., & Das, D. (2025). *An in-depth review on tannin sources, extraction methods, and industrial applications*. *Discover Food*, 5(1). <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00689-9>

- Ikram, K. D., Jayali, A. M., Umar, S., & Sasmita, I. (2017). Penentuan Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Samama (*Anthocephalus Macrophyllus*) Asal Ternate, Maluku Utara. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 15(1), 11.
- Ismail, A., & Wan Amir. (2019). *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp: A Potential Phytomedicine. *Pharmacogn J.*, 11(2), 429–438.
- Ismail, Erlena, Omar, & Wan Amir. (2020). *Antihypertensive Assay-Guided Fractionation of Syzygium polyanthum Leaves and Phenolics Profile Analysis Using LCQTOF/MS*. *Pharmacogn J.*, 12(6), 1670–1692.
- Jacobsen, S. S., Knob, F. C., Simon, A. P., & Oldoni, T. L. C. (2024). *Selective Extraction Process and Characterization of Antioxidant Phenolic Compounds from Pereskia aculeata Leaves Using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS*. *ACS Omega*, 9(35), 37374–37385.
- Jing, W., Xiaolan, C., Yu, C., Feng, Q., & Haifeng, Y. (2022). *Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113561.
- Joyce G.N, K., A Deborah, A., & David, W. (2024). *Determination of the Phenolic Content Levels in Freshly Prepared Juice*. *International Journal of Research and Innovation in Applied Science*, VIII(XII), 68–77.
- Julizan, N., Ishmayana, S., Zainuddin, A., Van Hung, P., & Kurnia, D. (2023a). *Potential of Syzygnium polyanthum as Natural Food Preservative: A Review*. *Foods*, 12(12).
- Julizan, N., Ishmayana, S., Zainuddin, A., Van Hung, P., & Kurnia, D. (2023b). *Potential of Syzygnium polyanthum as Natural Food Preservative: A Review*. *Foods*, 12(12), 2275.
- 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).
- Kristanto, A. T., Merry, M. S., & Hutomo, S. (2022). *Inhibitive Properties of Anredera Cordifolia Extract on Escherichia Coli Swimming Motility*. *Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana*, 6(2), 28–31.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). *Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70.
- Kurang, R. Y. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 3(1), 13–21.
- Lee, J. E., Jayakody, J. T. M., Kim, J. Il, Jeong, J. W., Choi, K. M., Kim, T. S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J. M., & Ryu, B. M. (2024). *The Influence of Solvent Choice on*

the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. Foods, 13(19).

- Lekmine, S., Boussekine, S., Akkal, S., Martín-García, A. I., Boumegoura, A., Kadi, K., Djeghim, H., Mekersi, N., Bendjedid, S., Bensouici, C., & Nieto, G. (2021). *Investigation of photoprotective, anti-inflammatory, antioxidant capacities and lc-esi-ms phenolic profile of astragalus gombiformis pomel. Foods, 10(8).*
- Lestari, E. D., Sari, K. R. P., & Pratama, N. P. (2022). Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi n-heksan, Etil Asetat, dan Air Dari Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Majalah Farmaseutik, 18(4).*
- Lim, J., Kim, K., Kwon, D. Y., Kim, J. K., Sathasivam, R., & Park, S. U. (2024). *Effects of Different Solvents on the Extraction of Phenolic and Flavonoid Compounds, and Antioxidant Activities, in Scutellaria baicalensis Hairy Roots. Horticulturae, 10(2).*
- Lim, J. S., Han, S., Kim, J. S., Kim, S., & Oh, B. (2025). *Effects of NSAIDs on Early CKD Development: A 10-Year Population-Based Study Using the Korean Senior Cohort. Drugs and Aging, 42(10), 953–961.*
- M, A., I, M. A., Ramalingam, K., & S, R. (2023). *Evaluation of the Anti-inflammatory, Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Effects of Chitosan Thiocolchicoside-Lauric Acid Nanogel. Cureus, 15(9), e46003.*
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry, 10(1), 64–78.*
- Martono, Y., Novitasari, F., & Aminu, N. R. (2020). *Determination of Shelf Life of Herbal Products from the Combination of Stevia rebaudiana, Curcuma zanthorrhiza and Honey (Stekurmin MD) through the Accelerated Shelf Life Test (ASLT) Method. Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi, 23(9), 325–332.*
- Maryani, & Halim, Y. (2022). *Functional and sensory properties of Indonesian bay leaf (Syzygium polyanthum) herbal tea. Food Research (Malaysia), 6(2), 25–33.*
- Masykuroh, A., & Ummah, U. K. (2024). *Determination Of Total Flavonoid Content Of Ethanolic Extract Of Urena Lobata L. Flower Using Uv-Vis Spectrophotometry. Cumulative Abstract Index to Nematologica, 9, 133–161.*
- More, S. S., Kadam, S. P., & Redasani, V. K. (2025). *A Comprehensive Review of UV-visible spectroscopy. International Journal of Pharmaceutical Research and Applications, 10(3), 135.*
- Ngamkhae, N., Monthakantirat, O., Chulikhit, Y., Boonyarat, C., Maneenet, J., Khamphukdee, C., Kwankhao, P., Pitiporn, S., & Daodee, S. (2022). *Optimization of extraction method for Kleeb Bua Daeng formula and comparison between*

- ultrasound-assisted and microwave-assisted extraction. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 28, 100369.
- Ngo, T. Van, Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Ngo, P. D., & Vuong, Q. Van. (2017). *Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of Salacia chinensis L. Journal of Food Quality*, 2017.
- Nicolescu, A., Bunea, C. I., & Mocan, A. (2025a). *Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. Analytical Biochemistry*, 700, 115794.
- Nicolescu, A., Bunea, C. I., & Mocan, A. (2025b). *Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. Analytical Biochemistry*, 700.
- Nikolaeva, T. N., Lapshin, P. V., & Zagorskina, N. V. (2022). *Method for Determining the Total Content of Phenolic Compounds in Plant Extracts with Folin–Denis Reagent and Folin–Ciocalteu Reagent: Modification and Comparison. Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 48(7), 1519–1525.
- Ningtyas, R. H., & Erwiyani, A. R. (2019). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*. 02, 4–7.
- Nordin, M. L., Othman, A. A., Kadir, A. A., Shaari, R., Osman, A. Y., & Mohamed, M. (2019). *Antibacterial and cytotoxic activities of the Syzygium polyanthum leaf extract from Malaysia. Veterinary World*, 12(2), 236.
- Okpala, O. E., Rondevaldova, J., & Kokoska, L. (2025). *Anti-inflammatory drugs as potential antimicrobial agents: a review. Frontiers in Pharmacology*, 16, 1557333.
- Peiris, D., Fernando, D., Senadeera, S., & Ranaweera, C. (2025). *Assessment of In vitro Anti-Inflammatory Activity: A Comprehensive Review of Methods, Advantages, and Limitations. Asian Journal of Research in Biochemistry*, 15(2), 37–52.
- 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.
- Perkasa, A. Y. (2023). *An Introduction To Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) As A Source Of Antioxidant Compounds. Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 6(2), 16–20.
- Piazza, S., Fumagalli, M., Martinelli, G., Pozzoli, C., Maranta, N., Angarano, M., Sangiovanni, E., & Dell’Agli, M. (2022). *Hydrolyzable Tannins in the Management of Th1, Th2 and Th17 Inflammatory-Related Diseases. Molecules*, 27(21).

- Pratiwi, D. M. N., Yuliani, S. H., & Samirana, P. O. (2025a). *Studies on anti-inflammatory activity and wound-healing property of secondary metabolite of Anredera cordifolia (Ten.) Steenis leaves: A review. Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 15(2), 45–56.
- Pratiwi, D. M. N., Yuliani, S. H., & Samirana, P. O. (2025b). *Studies on anti-inflammatory activity and wound-healing property of secondary metabolite of Anredera cordifolia (Ten.) Steenis leaves: A review. Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 15(2), 045–056.
- Pu, X., Naoki, & Carlos. (2024). *Frontiers | Editorial: Plant secondary metabolite biosynthesis. Front Plant Sci*, 15(2024), 1–10.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., & Faizah, N. G. A. (2019). *Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Daun Petai (Parkia speciosa Hassk.). Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1), 1–8.
- Raharjo, S. J., Azizah, D. N., & Yusuf, A. R. (2025). *Optimization of Total Polyphenol Content In Herbal Tea Formula Bay Leaves, Cinnamon, and Black Tea. Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 14(1), 113–122.
- Rahimah, S. B., Djunaedi, D. D., Soeroto, A. Y., & Bisri, T. (2019a). *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.
- Rahimah, S. B., Djunaedi, D. D., Soeroto, A. Y., & Bisri, T. (2019b). *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.
- Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. Bin, & Uddin, M. S. (2022). *Role of phenolic compounds in human disease: Current knowledge and future prospects. Molecules*, 27(1).
- Rahmawati, I., Hafiziaulhaq Azizi, D., Nafila Wibowo, J., Reza, M., & Arief Fachri, B. (2025). *Part of the Analytical Chemistry Commons, and the Other Chemical Engineering Commons Recommended Citation Recommended Citation Rahmawati. Makara Journal of Science*, 29(1), 1–16.
- Razoki, Butar-Butar, R. G. S., Neswita, E., Sembiring, N. B., Novriani, E., Simanjuntak, N. J. P., & Pakpahan, E. H. (2023). Uji skrining fitokimia dan

- pengukuran kadar total flavonoid pada ekstrak paku (*Nephrolepis biserrata*) dengan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), 1142–1160.
- Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. Bin. (2023). *From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental Influences, and In Vitro Approaches*. *Metabolites*, 13(8), 895.
- Rojas-Ocampo, E., Torrejón-Valqui, L., Muñoz-Astecker, L. D., Medina-Mendoza, M., Mori-Mestanza, D., & Castro-Alayo, E. M. (2021). Antioxidant capacity, total phenolic content and phenolic compounds of pulp and bagasse of four Peruvian berries. *Heliyon*, 7(8), e07787.
- Sabalingam, S. (2025). *In-vitro approaches to evaluate the anti-inflammatory potential of phytochemicals: A Review*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 15(1), 187–192.
- Sabandar, C. W., Jalil, J., Ahmat, N., Aladdin, N. A., Zawawi, N. K. N. A., & Sahidin, I. (2022). *Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Syzygium polyanthum (Wight) Walp. Sains Malaysiana*, 51(5), 1475–1485.
- Safrudin, B., Mursiti, S., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2022). 2022) 170 Indo. Beni Safrudin & Sri Mursiti / *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(2), 170–180.
- Salim, A., Kristanto, D. F., Subianto, F., Sundah, J. E., Jamaica, P. A., Angelika, T., & Maulida, N. F. (2021a). *Phytochemical Screening and Therapeutic Effects of Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Leaves*. *Indonesian Journal of Life Sciences*, 03(02), 43–55.
- Salim, A., Kristanto, D. F., Subianto, F., Sundah, J. E., Jamaica, P. A., Angelika, T., & Maulida, N. F. (2021b). *Phytochemical Screening and Therapeutic Effects of Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Leaves*. *Indonesian Journal of Life Sciences*, 03(02), 43–55.
- Sam, S., Malik, A., & Handayani, S. (n.d.). Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. In *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* (Vol. 3, Issue 2).
- Sam, S., Malik, Abd., & Handayani, S. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 182–187.
- 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. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.171095>

- Saraswati, A. N. A., Rahmadani, A. P., Ramaniya, J. A. C., Awallia, P. L., & Tristananda, S. (2025). *Standarisasi Spesifik, Non Spesifik, Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. 4(1), 11–22.
- Schober, P., & Schwarte, L. A. (2018). *Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation*. *Anesthesia and Analgesia*, 126(5), 1763–1768.
- Septia Ningsih, D., Henri, H., Roanisca, O., & Gus Mahardika, R. (2020). *Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (Baeckea frutescens L.)*. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3), 178–185.
- Sharma, T., Gamit, R., Acharya, R., & Shukla, V. J. (2023). *Quantitative estimation of total tannin, alkaloid, phenolic, and flavonoid content of the root, leaf, and whole plant of Byttneria herbacea Roxb.* *Ayu*, 42(3), 143.
- 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, 106646.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). *Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation*. *LWT*, 150, 111932.
- Sjahid, L. R., Aqshari, A., & Sediarsa, S. (2020). *Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Hasil Ultrasonic Assisted Extraction Daun Binahong (Anredera cordifolia [Ten] Steenis)*. *Jurnal Riset Kimia*, 11(1), 16–23.
- Soares, S., Brandão, E., Guerreiro, C., Soares, S., Mateus, N., & De Freitas, V. (2020). *Tannins in food: Insights into the molecular perception of astringency and bitter taste*. *Molecules*, 25(11).
- Sobhani, K., Li, J., & Cortes, M. (2023). *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)*. *First Aid Perioperative Ultrasound: Acute Pain Manual for Surgical Procedures*, 127–138.
- Souhoka, F. A., Kapelle, I. B. D., & Sihasale, E. (2021). *Phytochemical and Antioxidant Test of Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Leaves Ethanol Extract*. *Fullerene Journal of Chemistry*, 6(1), 28.
- Souza, C. R. M., Bezerra, W. P., & Souto, J. T. (2020). *Marine Alkaloids with Anti-Inflammatory Activity: Current Knowledge and Future Perspectives*. *Marine Drugs*, 18(3), 147.
- Sultana, S., Lawag, I. L., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). *A Critical Exploration of the Total Flavonoid Content Assay for Honey*. *Methods and Protocols*, 7(6).

- Suprijono, A., & Wulan S., A. A. H. (2022). *Antioxidant Activity Test Combination Sarang Semut Extract (Myrmecodia Pendans) And Rosella Flower Extract (Hibiscus Sabdariffa L.) With Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Method. International Journal of Life Science and Agriculture Research, 01(04).*
- Suryani, N. (2025). Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Antikolesterol serta Kandungan Fenolik dan Flavonoid dari Ekstrak Khaya (*Khaya anthothea*). *Jurnal Kartika Kimia, 8(1).*
- Susanti, H. (2019). *Total phenolic content and antioxidant activities of binahong (Anredera cordifolia.). Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia, 10(2), 171–175.*
- Tayone, J. C., & Rosario, R. M. Del. (2017). *Crude extract yield, total phenolics, and total flavonoids from the ink of sea hare (Dolabella auricularia). International Journal of Advanced And Applied Sciences, 4(11), 17–21.*
- Tinting, A. V., Kamu, V. S., & Aritonang, H. F. (2024). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Asoka (*Ixora coccinea* L.) dan Fraksi Pelarut Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Chemistry Progress, 17(1), 49–59.*
- Tukiran, T., Suyatno, S., Sabila, F. I., & Sari, A. K. (2023). Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol *Secang (Caesalpinia sappan L.)* dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein Bovien Serum Albumin. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya, 7(1).*
- Wakeel, A., Jan, S. A., Ullah, I., Shinwari, Z. K., & Xu, M. (2019). *Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of Isatis tinctoria. PeerJ, 2019(10), 1–19.*
- Wardatun, S., Mahyuni, S., & Sri Mulyani, J. (2025). *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.*
- Weng, Z., & Shen, S. (2021). *Complete chloroplast genome characterization and phylogenetic analysis of Anredera cordifolia (Tenore) Steenis (Basellaceae). Mitochondrial DNA Part B: Resources, 6(7), 1867–1868.*
- Wu, T., Sheng, Y., Tian, Y., & Wang, C. (2023). *Vitexin Regulates Heat Shock Protein Expression by Modulating ROS Levels Thereby Protecting against Heat-Stress-Induced Apoptosis. Molecules, 28(22).*
- Xie, J., Xiong, S., Li, Y., Xia, B., Li, M., Zhang, Z., Shi, Z., Peng, Q., Li, C., Lin, L., & Liao, D. (2024). *Phenolic acids from medicinal and edible homologous plants: a potential anti-inflammatory agent for inflammatory diseases. Frontiers in Immunology, 15, 1345002.*

- Ysrafil, Y., Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohamad, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., Mamada, S. S., Emran, T. Bin, & Nainu, F. (2023a). *Anti-inflammatory activities of flavonoid derivatives. ADMET & DMPK, 11*(3), 331.
- Ysrafil, Y., Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohamad, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., Mamada, S. S., Emran, T. Bin, & Nainu, F. (2023b). *Anti-inflammatory activities of flavonoid derivatives. ADMET and DMPK, 11*(3), 331–359.
- Yu, X., Le Quéré, J. M., Sotin, H., Citeau, M., Dauguet, S., & Guyot, S. (2023). *Characterisation and quantification of condensed tannins in rapeseed hulls and meals by depolymerization methods. Journal of Food Composition and Analysis, 115*.
- Yumita, A. (2023). Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol 96% Daun Wijaya Kusuma (*Epiphyllum Oxypetalum (Dc.) Haw.*) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains Dan Kesehatan, 10*(2), 1.
- Zin, M. M., Anucha, C. B., & Bánvölgyi, S. (2020). *Recovery of Phytochemicals via Electromagnetic. Foods, 9*(918), 1–20.
- Zugazua-Ganado, M., Bordagaray, A., Ezenarro, J., Garcia-Arrona, R., Ostra, M., & Vidal, M. (2024). *Adaptation of the Folin-Ciocalteu and Fast Blue BB spectrophotometric methods to digital image analysis for the determination of total phenolic content: Reduction of reaction time, interferences and sample analysis. Lwt, 193*.