

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS
(*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH**



Oleh :

Nama : Amar Jansen Yapsenang

NIM : 14820119002

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS SAINS TERAPAN
UNIVERSITAS PENDIDIKAN MUHAMMADIYAH SORONG
SORONG**

2025

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS
(*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH**

**Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat Untuk Mencapai
Gelara Sarjana Farmasi Pada Fakultas Sains Terapan
Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong**

Oleh :

Nama : Amar Jansen Yapsenang

NIM : 14820119002

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS SAINS TERAPAN
UNIVERSITAS PENDIDIKAN MUHAMMADIYAH SORONG
SORONG**

2025

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS (*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH

Nama : Amar Jansen Yapsenang

NIM : 14820119002

Telah disetujui tim pembimbing

Pada : 25 Juni 2025

Pembimbing I

A.M. Muslihin, M.Si

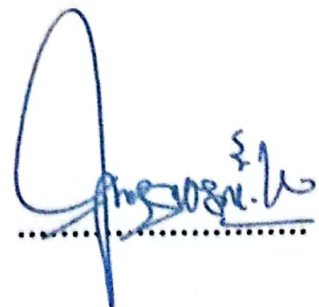
NIDN. 1428089501



Pembimbing II

Dr. apt. Lukman Hardia, M.Si

NIDN. 1419069301



LEMBAR PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS (*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH

Nama : Amar Jansen Yapsenang

Nim : 14820119002

Skripsi ini telah disahkan oleh Dekan Fakultas Sains Terapan
Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong

Pada tanggal : 25 Juni 2025

Dekan Fakultas Sains Terapan



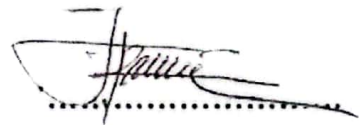
Siti Hadija Samual, S.P., M.Si

NIDN. 1427029301

Tim Penguji Skripsi

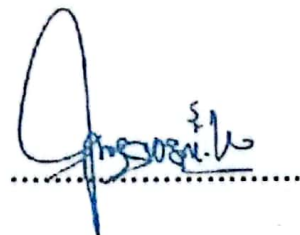
1. Irwandi, M.Farm

NIDN. 1430049501



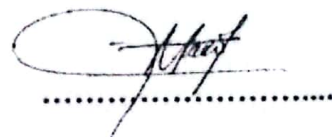
2. Dr. apt. Lukman Hardia, M.Si

NIDN. 1419069301



3. A.M. Muslihin, M.Si

NIDN. 1428089501



HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya mengatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesejahteraan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau disebutkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacuh dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar Pustaka.

Sorong, 23 Juni 2025



Amar Jansen Yapsenang

Nim. 14820119002

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

- ❖ Orang-orang yang menabur dengan mencururkan air mata, akan menuai dengan bersorak-sorai (Mazmur 126 : 5)
- ❖ Tidak ada mimpi yang gagal, yang ada hanyalah mimpi yang tertunda. Cuma sekiranya kalau teman-teman merasa gagal dalam mencapai mimpi, jangan khawatir, mimpi-mimpi lain bias diciptakan (Windah Basudara)
- ❖ Bukan bencana kiamat atau kematian yang harus ana khawatirkan melainkan bekal apa saja yang anda sudah kumpulkan untuk menyambut kehidupan setelah kematian. (Jhon IQ7)

PERSEMBAHAN

Hasil penelitian ini saya persembahkan untuk :

1. Penghargaan teristimewa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua Ayahanda terkasih Alm. Agustinus Yapsenang dan Ibunda tercinta Ermika Wabia yang selalu memberikan doa, nasehat, serta atas kesabarannya yang luar biasa dalam setiap langkah penulis.
2. Kepada kaka tercinta kaka Ida Yulianti Yapsenang dan kaka Susi Rosari Ajo, dalam membantu penyusunan skripsi ini.
3. Kepada teman-teman saya Frans Tandililing dan Yusran Pasulu yang telah berpartisipasi dalam penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.
4. Terakhir kepada adik-adik tingkat yang selalu ada menemani dan membantu dalam membuat skripsi ini.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan Syukur penulis ucapkan kehadirat Tuhan yang maha esa atas segala hikmat dan rahmat yang tak terhingga sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS (*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH**

Skripsi ini disusun untuk melengkapi salah satu syarat gelar sarjana farmasi di Fakultas Sains Terapan Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.

Selanjutnya, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh pihak yang telah membantu kelancaran penulisan skripsi ini, baik berupa dorongan moril dan materil. Karena tanpa bantuan dan dukungan tersebut, sulit rasanya bagi penulis untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Dengan ketulusan hati penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. H. Rustamadi, M.Si. selaku Rektor Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.
2. Siti Hadija Samual, S.P., M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains Terapan Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.
3. Ratih Arum Astuti, M.Farm. selaku kepala program studi farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.
4. A. M. Muslih, M.Si. selaku pembimbing pertama penulis dari awal hingga selesainya penulisan skripsi ini.
5. Apt. Lukman Hardia, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.
6. Seluruh keluarga yang telah membantu memberikan motivasi dan doa bagi penulis.
7. Teman – teman Angkatan 2019 yang telah memberi bantuan motivasi dan inspirasi bagi penulis.

8. Mahasiswa angkatan 2020 yang telah membantu penulis dalam proses penelitian.

Dalam penulisan skripsi ini walaupun penulis telah berusaha semaksimal mungkin, tentunya masih banyak kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki, oleh karena itu penulis berharap ada saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya pada bidang farmasi.

Penulis

Amar Jansen Yapsenang

Nim. 14820119002

ABSTRAK

Amar Jansen Yapsenang / 14820119002. **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGKUS (*Smilax rotundifolia*) DENGAN METODE DPPH** SKRIPSI. Fakultas Sains Terapan Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong. Mei, 2025.

Penyakit degeneratif disebabkan oleh radikal bebas yang merusak sel dalam tubuh manusia. Radikal bebas dapat dinetralkan oleh senyawa antioksidan. Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah daun bungkus (*Smilax rotundifolia*). Secara tradisional dan penelitian, daun bungkus sering digunakan masyarakat Papua sebagai obat kejantanan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) yang diukur dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Penelitian ini dilakukan secara observasional dengan sampel yang diambil dari Kabupaten Sorong, Papua Barat Daya. Ekstrak daun bungkus dibuat dengan metode meserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antioksidan daun bungkus dengan menggunakan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Hasil dari skrining fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, steroid, alkaloid, tanin, dan saponin. Uji DPPH dari penelitian ini menunjukkan IC_{50} ekstrak daun bungkus dengan pelarut etanol 96% didapatkan bernilai 190.26 ppm. Ekstrak daun bungkus menggunakan pelarut etanol 96% tergolong ke dalam antioksidan lemah berdasarkan klasifikasi Blois.

Kata kunci : Antioksidan, ekstrak daun bungkus (*Smilax Rotundifolia*), DPPH, IC_{50}

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Uraian Tanaman	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Morfologi Tanaman.....	5
2.1.3 Kandungan Kimia	6
2.1.4 Manfaat dari daun bungkus	6
2.2 Atom Reaktif	7
2.3 Radikal bebas	7
2.4 Antioksidan.....	8
2.4.1 Pengertian Antioksidan	8
2.4.2 Jenis-jenis Antioksidan.....	8
2.4.3 Mekanisme Kerja Flavanoid.....	10

2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	11
2.6 Metode Ekstraksi	13
2.6.1 Cara dingin.....	14
2.6.2 Cara panas.....	14
2.7 Pelarut Senyawa.....	15
2.7.1 Jenis Pelarut	16
2.7.2 Sistem Pelarut	16
2.8 Uji Fitokimia.....	16
2.9 Instrumen Spektrometer UV-VIS	16
2.9.1 Sumber Radiasi	17
2.9.2 Monokromator	17
2.9.3 Sel atau Kuvet	17
2.9.4 Teknik Fotosel.....	18
2.9.5 Teknik Display.....	18
2.10 Uraian Bahan	20
2.11 Kerangka konsep.....	25
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1 Desain Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.3 Populasi dan Sampel	26
3.4 Variabel Penelitian.....	26
3.4.1 Variabel Bebas	26
3.4.2 Variabel Terikat	26
3.4.3 Variabel Terkendali.....	26
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	26
3.5.1 Alat Penelitian.....	26
3.5.2 Bahan Penelitian.....	27
3.6 Prosedur Kerja	27
3.6.1 Penyiapan Bahan	27
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Bungkus	27
3.6.3 Skrining Fitokimia.....	28

a) Pembuatan larutan uji fitokimia	28
b) Uji Alkaloid	28
c) Uji Flavanoid	28
d) Uji Tanin	28
e) Uji Saponin	29
3.6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	29
a) Pembuatan Larutan DPPH	29
b) Penentuan λ maks DPPH	29
c) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bungkus	29
d) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Vitamin C .	29
e) Analisis Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil Penelitian	31
4.2 Pembahasan	32
4.2.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Bungkus	32
4.2.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia	34
4.2.3 Pengukuran Absorbansi	35
4.2.4 Hasil Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH	36
BAB V PENUTUP	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
Lampiran	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Bungkus	5
Gambar 2.2 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH.....	12
Gambar 2.3 Cahaya pembacaan spektrofotometer.....	19
Gambar 2.4 Gambar cahaya pembacaan spektrophotometer.....	20
Gambar 4.6 Mekanisme reaksi Vitamin C dan DPPH	38

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai IC ₅₀	12
Tabel 4.1 Hasil rendamen ekstrak daun bungkus.....	31
Tabel 4.2 Hasil uji skrining fitokimia.....	31
Tabel 4.3 Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun bungkus.....	32
Tabel 4.4 Hasil pengujian aktivitas antivas antioksidan Vitamin C	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagang alur kerja penelitian.....	45
Lampiran 2. Perhitungan DPPH, konsentrasi ekstrak, pengenceran Vitamin C, konsentrasi Vitamin C, nilai % inhibisi, nilai IC ₅₀	47
Lampiran 3. Gambar Penelitian	58

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif adalah proses terjadinya penurunan dari fungsi sel-sel saraf dari waktu ke waktu sampai mengakibatkan fungsi sel saraf yang tadi normal menjadi tidak normal yang menyebabkan resiko terkena penyakit kanker, jantung, strok, diabetes, hipertensi, dan sebagainya. Pada umumnya penyakit degeneratif disebabkan oleh faktor usia yang bertambah tua dan juga pola hidup yang tidak sehat seperti mamakan makanan yang tidak sehat dan kurang berolahraga, dan pencemaran lingkungan yang dapat menimbulkan terjadinya radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh manusia (Of and Empowerment, 2022).

Radikal bebas adalah atom dengan elektron yang tidak berpasangan, sehingga membuatnya reaktif dan rentan terhadap reaksi berkelanjutan yang menghasilkan radikal baru. Radikal bebas menimbulkan risiko yang signifikan bagi tubuh manusia karena dapat merusak komponen seluler seperti lipid, protein, dan DNA (Oktarini *et al.*, 2014). Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang berasal dari sumber eksternal atau dalam tubuh yang secara bertahap dapat menyebabkan gangguan pada tubuh manusia. Penanganan radikal bebas, seperti menggunakan zat yang memiliki sifat antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan merupakan zat yang berperan penting dalam menjaga kesehatan karena kemampuannya menetralkan molekul radikal bebas. Antioksidan merupakan zat yang secara efektif dapat mencegah atau memperlambat oksidasi senyawa lain yang mudah teroksidasi, meskipun hadir dalam kadar yang rendah. (Ardawiah *et al.*, 2015).

Antioksidan adalah senyawa yang dibutuhkan tubuh untuk menangkal radikal bebas dan menghentikan kerusakan yang ditimbulkannya. Jika tubuh manusia kekurangan kadar antioksidan yang cukup, tubuh akan lebih rentan terhadap radikal bebas. Menurut sumbernya, antioksidan dikategorikan menjadi dua jenis: antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan alami lebih umum ditemukan dari pada antioksidan sintetis, karena antioksidan sintetis dapat

menimbulkan efek samping, sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang diperlukan (Bulla, 2020)

Menurut sumbernya, antioksidan dapat dikategorikan menjadi dua jenis: antioksidan alami (yang berasal dari zat alami) dan antioksidan buatan/sintetis (yang dibuat melalui sintesis kimia). Contoh antioksidan alami biasanya meliputi flavonoid (seperti quercetin, kaempferol, dan apigenin), tanin (seperti katekin dan beberapa asam galat), vitamin C, vitamin E, dan lain-lain. (Delta *et al.*, 2021)

Contoh antioksidan sintetis antara lain BHA (Butylated Hydroxy Anisol) dan BHT (Butylated Hydroxy Toluene). Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan sintetis (BHA dan BHT) dapat menyebabkan kerusakan hati dan perkembangan kanker. Hal ini mengakibatkan peningkatan penelitian dan penerapan antioksidan alami. (Basma *et al.*, 2013).

Daun bungkus atau yang biasanya disebut daun tiga jari (*Smilax rotundifolia*) adalah tumbuhan liar dan merambat di pohon-pohon di hutan papua khususnya di papua tumbuhan ini banyak terdapat di daerah pesisir pantai dan wilayah pedalaman papua dikenal berkhasiat tinggi sebagai obat kejantanan. Di wilayah Kaimana masyarakat ararutu menggunakan daun bungkus untuk memperbesar penis, membuat penis lebih keras dan lama ejakulasi. Daun bungkus menjadi salah satu tanaman alternatif yang muda di gunakan di kalangan masyarakat irarutu (Pranata *et al.*, 2021)

Banyak tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat, baik sebagai bahan makanan maupun sebagai sumber obat. Tanaman daun bungkus merupakan jenis tanaman perdu yang merambat. Jenis tanaman daun bungkus yang ditemukan di Papua memiliki tiga helai daun dan memiliki kebiasaan tumbuh menyebar, oleh karena itu disebut sebagai daun tiga jari atau daun mambri. Seperti yang dinyatakan oleh Zambell *et al.* (2015) daun muda dari tanaman daun bungkus dapat berfungsi sebagai komponen makanan yang mirip dengan asparagus dan bayam. Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) efektif untuk memperbesar ukuran penis, memperbesar bokong, memperbesar payudara, dan juga dapat mengatasi sifilis. (Jonatan, 2016)

Pada penelitian sebelumnya Daun bungkus mengandung senyawa metabolit sekunder yakni flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin serta memiliki aktifitas afrodisiak (Wulandari *et al* 2022). Banyak penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik sehingga mampu menetralkan radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. (Ne.wayan.O, 2014)

Proses untuk memperoleh senyawa polifenol dari daun bungkus melibatkan ekstraksi dengan etanol sebagai pelarut, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dinilai menggunakan metode *2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Pendekatan ini digunakan karena kesederhanaannya dan tidak memerlukan biaya tinggi. Uji DPPH juga digunakan untuk memastikan nilai IC₅₀ (konsentrasi penghambatan) untuk jenis ekstrak tertentu yang diperoleh. Kemampuan sampel untuk melawan radikal bebas melalui metode DPPH disebut sebagai IC₅₀ (konsentrasi penghambatan), yang menunjukkan konsentrasi yang dapat mengurangi 50% radikal bebas. Semakin rendah nilai IC₅₀ (konsentrasi penghambatan), semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Marunung. 2021).

Meskipun tanaman daun bungkus telah banyak dimanfaatkan untuk pengobatan dan telah menjadi bagian penting dalam tradisi lokal masyarakat Papua, penelitian yang mendalam tentang tanaman ini masih terbatas. Belum ada penelitian yang secara khusus meneliti potensi antioksidan dari tanaman daun bungkus. Oleh karena itulah, dengan mengacu pada konteks tersebut, peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian mengenai studi in vitro ekstrak daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) sebagai antioksidan. Penelitian ini akan menggunakan metode DPPH untuk mengevaluasi potensi antioksidan dari daun bungkus dan memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang manfaat kesehatan yang mungkin dimilikinya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) memiliki kandungan senyawa kimia yang berefek sebagai antioksidan.
2. Apakah ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) memiliki aktivitas antioksidan.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*).
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai pengembangan ilmu pengetahuan, untuk memperoleh data ilmiah tentang ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) sebagai antioksidan.
2. Untuk memberikan informasi mengenai pengembangan obat bahan alam.

1.5 Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) memiliki metabolit sekunder yang dapat berefek sebagai antioksidan.
2. Ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) mengandung aktivitas antioksidan terlogong lemah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambar Tanaman Daun Bungkus



Gambar 2.1. Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*)

2.1.1 Klasifikasi Jenis Tanaman

Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytes
Kelas	: Angiospermae
Sub Kelas	: Dicotyledonae
Famili	: Smilacaceae
Genus	: Smilax
Spesies	: <i>Smilax rotundifolia</i>

2.1.2 Morfologi Tanaman

Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) adalah family smilacaceae dengan sekitar 210 spesies yang di ketahui. Daun ini hampir sejenis dengan daun sirih yang banyak terdapat di hutan Papua dengan tumbuh liar dimana tempat lebih khusus di daerah pinggiran pantai dan daerah yaang beriklim panas. Daun bungkus ini pada umumnya tumbuh menjalar dan menjuntai di pohon-pohon maupun semak-semak di hutan. Daun bungkus yang dipakai masyarakat Papua ada beberapa macam. Salah satu jenis yang panas adalah daun yang menjalar yang daunnya ada tiga sehingga dikenal daun tiga jari. Daun bungkus biasa digunakan masyarakat pada anak laki-laki usia di atas 17 tahun yang merupakan bagian tradisi atau kebiasaan orang papua dengan hidup menggunakan bahan herbal atau tanaman alami untuk segala kebutuhan kesehatan hidup mereka.

Masyarakat umumnya menjadikan tanaman daun bungkus sebagai salah satu obat tradisional untuk membesarkan penis tanpa mengetahui kandungan yang ada di dalam daun tersebut. Di wilayah Kaimana masyarakat irarutu menggunakan daun bungkus untuk memperbesar penis, membuat penis lebih keras dan lama ejakulasi. Daun bungkus menjadi salah satu tanaman alternatif yang muda di gunakan di kalangan masyarakat irarutu (Pranata *et al.*, 2021)

2.1.3 Kandungan Kimia

Dari hasil penelitian sebelumnya didapatkan skrining fitokimia ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin serta memiliki aktivitas afrodisiak. Ada beberapa penelitian yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatic sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid ini akan menyumbangkan satu atom hydrogen untuk menstabilkan radikal peroksil lemak. Maka Peneliti akan melakukan penelitian sejenis dengan menggunakan daun bungkus sebagai sampel dan mengkaji bagian dari daun bungkus untuk mengetahui aktivitas antioksidannya (Wulandari *et al* 2022).

2.1.4 Manfaat Daun Bungkus

Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) merupakan ramuan yang banyak digunakan di Papua khususnya di daerah pesisir sebagai penambah kejantanan pada pria. Masyarakat di Papua biasanya memanfaatkan daun bungkus karena lebih muda dan praktis untuk digunakan agar mencegah ejakulasi dini dan dapat memperbesar ukuran penis (Pranata *et al.*, 2021). Seperti yang dinyatakan oleh Zambell *et al.* (2015) daun muda tanaman daun bungkus dapat berfungsi sebagai komponen makanan yang mirip dengan asparagus dan bayam. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jonatan (2016) Daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) efektif untuk memperbesar ukuran penis, memperbesar bokong, memperbesar payudara, dan juga dapat mengatasi sifilis. Dari banyak penelitian yang telah dilakukan maka peneliti melihat banyak manfaat yang dapat diperoleh dari daun bungkus ini.

2.2 Atom Reaktif

Partikel penyusun atom yang tidak berpasangan dan mudah bereaksi karena memiliki orbital terluar yang tidak terisi penuh disebut atom reaktif. Radikal bebas kelak akan memberi respons terus-menerus di dalam tubuh guna mencapai kestabilan. Reaksi ini dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit jantung, katarak, penuaan dini, dan penyakit yang disebabkan oleh faktor lingkungan. Oleh karena itu, tubuh membutuhkan penangkal radikal bebas untuk melawan atom reaktif agar tidak bisa menyebabkan suatu kelainan (Syahara & Vera, 2020)

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga membuatnya tidak stabil dan mencari elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat muncul dari proses metabolisme tubuh, seperti saat bernapas (akibat reaksi oksidasi atau pembakaran). Saat terjadi infeksi, radikal bebas dibutuhkan untuk membasmi mikroorganisme yang bertanggung jawab atas infeksi tersebut. Paparan radikal bebas dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan sel dan kematian. Radikal bebas sangat reaktif, sehingga mengganggu kemampuan sel untuk beradaptasi dan menyebabkan penyakit (Ramadhan, 2015). Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen), yang terbentuk sebagai produk sampingan dari proses metabolisme (pembakaran), serta dari protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas juga dapat masuk ke dalam tubuh dari sumber eksternal (eksogen), seperti polusi udara, asap knalpot, berbagai bahan kimia, dan makanan yang hangus (berkarbonasi). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh dapat membahayakan sel target termasuk lemak, protein, karbohidrat, dan DNA. Penyakit mematikan dan kerusakan tubuh tertentu dipicu oleh radikal bebas. Ahli kimia telah lama menyadari bahwa aksi oksidatif radikal bebas dapat diatur atau bahkan dihentikan oleh berbagai antioksidan. Antioksidan merupakan zat yang secara efektif dapat mencegah atau memperlambat oksidasi senyawa lain yang mudah teroksidasi, meskipun hadir dalam kadar yang rendah. (Ardawiah *et al*, 2015)

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi (Simanjuntak 2012). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam) dan antioksidan buatan/sintetik (antoksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia), Contoh dari antioksidan alami umumnya seperti senyawa flavonoid (kuersetin, kaempferol dan apigenin), tanin (katekin dan 3 asam galat), vitaminC, vitamin E dan lain-lain. (Delta *et al.*, 2021)

Senyawa antioksidan saat ini semakin banyak digunakan seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat berbagai jenis penyakit degenerative seperti stroke, diabetes mellitus, penyakit jantung, *arterosclerosis*, kanker, serta gejala penuaan. Dari banyaknya penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, maka di butuhkan antioksidan dengan konsentrasi yang baik untuk dapat mencegah permasalahan yang berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif, penyebab dari berbagai penyakit tersebut (Salamah,2014).

2.4.2 Jenis-jenis Antioksidan

Untuk menangani radikal bebas yang bersifat baik eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mengembangkan mekanisme pertahanan dalam bentuk sistem antioksidan yang terdiri dari tiga kelompok, yaitu : (Anonim,2014)

1. Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja untuk menghambat pembentukan radikal bebas tambahan (perambatan); contohnya termasuk transferin, feritin, dan albumin.
2. Antioksidan yang bekerja untuk menyerap radikal bebas dan mencegah produksinya dikenal sebagai antioksidan sekunder. Antioksidan ini meliputi katalase, glutathione peroksidase (GPx), dan superoksida dismutase (SOD).
3. Antioksidan tersier atau enzim perbaikan adalah antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat radikal bebas. Antioksidan ini adalah metionina sulfosida reduktase, enzim perbaikan DNA, protease,

transferase, dan lipase.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat digunakan untuk manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu :

1. Antioksidan endogen atau enzim endogen adalah antioksidan yang sudah ada dalam tubuh manusia yang dihasilkan oleh tubuh manusia (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).
2. Antioksidan sintetis adalah antioksidan buatan yang didapat dari hasil sintesis reaksi kimia yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).
3. Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari tumbuhan yang didapatkan dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin C, vitamin E, senyawa fenolik (flavonoid) dan polifenol :

a. Vitamin C

Asam askorbat atau vitamin C adalah antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan yang dibutuhkan tubuh manusia. Asam askorbat dapat dimanfaatkan untuk mengatasi efek dari oksigen reaktif seperti, hydrogen peroksida, Antioksidan dan Pencegahan Kanker (Tayebrezvani *et al*, 2013).

b. Vitamin E

Vitamin E merupakan cairan berminyak polifilik, tidak berwarna, yang rentan terhadap oksidasi dengan adanya cahaya , oksigen, dan beberapa ion logam vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E, yang paling banyak dipelajari adalah (α -tokoferol) karena memiliki ketersediaan hayati yang tinggi (Peh *et al*, 2016).

c. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok polifenol dilihat dari struktur kimia dan biosintesisnya (Seleem *et al.*, 2017). Dalam perjalanan penelitian sampai tahun 2011 sudah 9000 lebih ditemukan pengembangan flavonid sebagai suplemen kesehatan (Wang *et al.*, 2018). Flavonoid sangat berperan dalam dunia

kesehatan karena memiliki aktifitas farmakologi yang beragam yaitu sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antidiabetes (Panche *et al.*, 2016). Dari penjelasan di atas maka peneliti dapat menjelaskan bahwa senyawa flavonoid mempengaruhi perkembangan dan kelangsungan hidup pada saat ini.

d. Polifenol

Kacang-kacangan, minyak, dan sayuran secara alami mengandung golongan antioksidan yang disebut polifenol. Flavonol, isoflavon, flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan adalah contoh zat kimia polifenol (Mokgope, 2014). Warna tanaman, termasuk warna daun, dipengaruhi oleh polifenol. Polifenol dapat berfungsi sebagai antibakteri, menghambat enzim oksidatif dan hidrolitik, serta melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. (Saxton, K. *et al.*, 2013).

2.4.3 Mekanisme Kerja Flavonoid

Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang berkhasiat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Flavonoid sebagai antioksidan dapat memiliki mekanisme kerja langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, flavonoid sebagai antioksidan akan mendonorkan ion hidrogen sehingga efek toksik dari radikal bebas dapat dinetralkan, secara tidak langsung, flavonoid akan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen dengan berbagai mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan yaitu dengan mengikuti aktivasi *nuclear faktor erythroid 2 related faktor 2* (Nrf2) sampai terjadi peningkatan gen yang berfungsi sebagai sintesis enzim antioksidan endogen seperti misalnya gen SOD (*Superoxide dismutase*) stres oksidasi akan mengakibatkan terbentuknya MDA, yaitu ketidak seimbangan antara pembuatan *reaktive oxygen species* (ROS) dengan adanya antioksidan, disini radikal bebas sangat tinggi dari pada antioksidan. Radikal bebas dan peroksinitrilir yang berlebihan akan menyerang membran sel dan lipoprotein sehingga menyebabkan terbentuknya peroksida lipid dan menyebabkan MDA (Sumardika & jawi 2014). Mekanisme umum aktivitas antioksidan adalah membatasi oksidasi lemak. Tiga fase utama oksidasi lemak adalah inisiasi, propagasi, dan terminasi. Radikal asam lemak, atau senyawa yang terbuat dari asam lemak yang tidak stabil dan sangat

reaktif karena kehilangan satu atom hidrogen, terbentuk selama tahap inisiasi (reaksi 1). Tahap berikutnya, yang disebut propagasi, radikal asam lemak bercampur dengan oksigen untuk menghasilkan radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi kemudian akan menyerang 14 asam lemak untuk membentuk hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).

Inisial : $RH \rightarrow R\cdot + H\cdot$ (reaksi 1)

Propagasi : $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$ (reaksi 2)

$ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$ (reaksi 3)

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek (Kumalaningsih, 2015). Setelah propagasi, tahap terakhir adalah reaksi terminasi (Rohman, 2016). Reaksinya sebagai berikut :

Terminasi: $ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$ (reaksi 4)

$ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$ (reaksi 5)

$R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$ (reaksi 6)

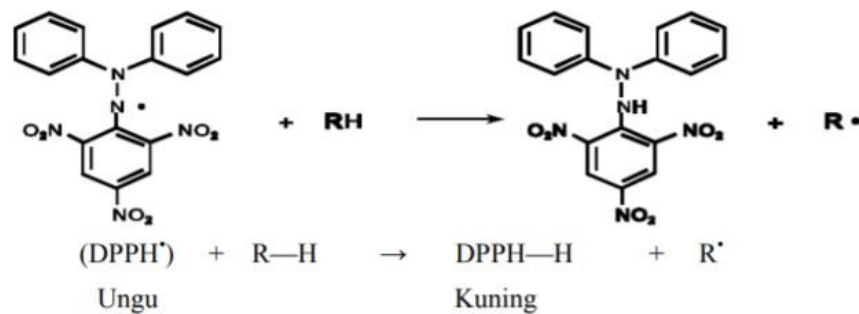
Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk (Kumalaningsih, 2015).

2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Untuk mengetahui seberapa baik bahan aktif ekstrak dapat menyerap radikal bebas, dilakukan uji aktivitas antioksidan. Dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl*), aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dinilai. Karena elektron bebas terdelokalisasi melintasi molekul, DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer. Dengan metode ini, uji aktivitas antioksidan didasarkan pada reduksi DPPH oleh bahan kimia antioksidan dalam sampel, yang menghasilkan senyawa DPP Hidrazin (DPPH) berwarna kuning dan hilangnya warna ungu. Teknik ini lebih mudah digunakan dan memiliki waktu analisis yang lebih cepat karena tidak memerlukan substrat. (Fitryanti *et al.*, 2016).

Aktivitas antioksidan sering diukur menggunakan DPPH (*2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl*). Dengan menyumbangkan atom hidrogen, antioksidan (AH) bereaksi dengan radikal bebas DPPH, mengubah warnanya dari ungu menjadi

kuning. Kekuatan pergeseran warna ditentukan menggunakan spektrofotometer yang diatur pada 517 nm. Aktivitas penghambatan radikal bebas diukur menggunakan metode ini.



Gambar 2.2 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Schwarz *et al*, 2016).

Pendekatan ini berlaku untuk semua senyawa antioksidan yang ada dalam sampel, bukan hanya satu. Metode umum untuk mengevaluasi kandungan antioksidan makanan adalah DPPH. Warna berubah menjadi kuning ketika radikal DPPH berpasangan dengan atom hidrogen antioksidan untuk membentuk DPPH-H. Rumus berikut dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan.

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansikontrol} - \text{Absorbansisampel}}{\text{Absorbansikontrol}} \times 100$$

Berdasarkan rumus tersebut, makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal bebas. Aktivitas antioksidan dinyatakan secara kuantitatif dengan IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi larutan uji yang menghasilkan reduksi DPPH sebesar 50%.

Tabel 2.1 Nilai IC_{50}

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

Sifat Antioksidan Berdasarkan nilai IC_{50} (Fitryanti *at el.*, 2016).

2.6 Metode Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan proses penarikan zat padat dalam simplisia yang ditarik oleh pelarut yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding

sel kemudian masuk ke rongga-rongga sel tumbuhan yang berisi zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut dalam pelarut organik di bagian luar sel untuk kemudian berdifusi ke dalam pelarut. Proses ini terus berlangsung hingga terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara bagian dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel (Marjoni, 2016). Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang tepat. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang tepat ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi di dalam sel tumbuhan. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan dengan menggunakan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan menjadi fraksi-fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhrani, 2014).

Tujuan dari ekstraksi bahan alam adalah untuk mengekstrak senyawa kimia yang terkandung dalam bahan alam. Prinsip dari ekstraksi ini adalah terjadinya perpindahan massa komponen ke dalam pelarut, dimana perpindahan tersebut dimulai pada lapisan batas kemudian menjalar di dalam pelarut. (Laha, 2018). Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, jenis pelarut dan suhu yang digunakan. Proses ekstraksi menjadi sempurna apabila waktu yang digunakan semakin lama, suhu semakin tinggi, dan polaritas pelarut semakin dekat dengan komponen yang diekstraksi. (Kate, 2014)

Pada umumnya suhu ekstraksi yang semakin tinggi membuat kelarutan zat aktif akan bertambah besar. Akan tetapi, suhu ekstraksi harus dikontrol, karena suhu yang terlalu tinggi dapat membuat bahan rusak pada suhu diatas 50°C. Komponen Bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan tokoferol tidak dapat bertahan yang menyebabkan perubahan struktur sehingga hasil ekstrak lebih rendah. Rendahnya suhu ekstraksi dan singkatnya waktu ekstraksi menyebabkan rendahnya rendamen (Handayani dan Sriherfana, 2016).

2.6.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Metode ekstraksi yang dilakukan pada suhu kamar tanpa pemanasan disebut maserasi. Metode maserasi memanfaatkan pengadukan atau pengocokan berulang-ulang untuk mempercepat proses ekstraksi. Hal ini dilakukan untuk mengekstrak simplisia yang mudah rusak karena panas. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya membantu memisahkan komponen bahan aktif dalam simplisia. Semakin lama waktu perendaman simplisia, semakin banyak senyawa yang dapat diekstraksi. Prinsip kerja metode maserasi adalah difusi larutan pelarut ke dalam sel tanaman. Difusi menyebabkan perbedaan konsentrasi larutan antara di dalam dan di luar sel. Zat yang memiliki polaritas yang sama dengan pelarut akan terdorong keluar dari sel. Pelarut dipilih berdasarkan kesesuaian sifat kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan komponen bahan aktif dalam simplisia. Jumlah zat yang dapat diekstraksi meningkat dengan bertambahnya waktu perendaman sampel (Asma *et al.*, 2022)

Prinsip kerja metode maserasi adalah difusi larutan pelarut ke dalam sel tanaman. Difusi menyebabkan terjadinya perbedaan keseimbangan antara bagian dalam dan luar sel. Zat-zat yang memiliki polaritas yang sama dengan pelarut akan terdorong keluar dari sel (Pratiwi *et al.*, 2016). Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu senyawa aktif yang diekstraksi tidak akan rusak (Chairunnisa, 2019)

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut yang harus baru agar dapat terekstraksi dengan baik, yang biasanya dilakukan pada suhu ruangan hingga diperoleh hasil ekstraksi (perkolat). (Nur Endah, 2017).

2.6.2 Cara Panas

1. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi dengan pengadukan terus menerus pada suhu yang lebih panas dari suhu ruangan, yaitu pada suhu 40-50°C. (Nur Endah, 2017).

2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut pada suhu didih secara terus menerus dan dalam jumlah pelarut yang relatif sedikit dengan adanya pendingin balik. (Susanty & Bachmid, 2016)

3. Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi dilakukan dengan mengambil senyawa dari tanaman yang mempunyai khasiat dengan cara merebus pada suhu 95°C selama 15 menit menggunakan air sebagai pelarut. (Kurniawati & Nastiti, 2020)

4. Dekokta

Dekokta merupakan prosedur ekstraksi memanfaatkan pelarut air pada suhu 90°C-100°C selama 30 menit. (Nur Endah, 2017).

5. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi bertingkat yang menggunakan pelarut yang relatif sedikit dan dilakukan secara terus-menerus. Pelarut yang umum digunakan adalah pelarut yang mudah menguap atau memiliki titik didih yang relatif rendah. (Kencana & Farmasi, 2021).

2.7 Pelarut Senyawa

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan senyawa pada benda yang mana disesuaikan dengan sifat dari apa yang ingin dimanfaatkan. Di dalam tanaman terdapat beragam senyawa bioaktif dengan sifat kimia yang berbeda-beda. Oleh karena itu, untuk mengisolasi senyawa-senyawa tersebut, berbagai pelarut yang berbeda dapat digunakan (Yohed, 2017). Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor, antara lain selektivitas, kemampuan ekstraksi, toksisitas, kemudahan penguapan, dan harga pelarut. Larutan ekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan polaritas senyawa yang diinginkan. Berdasarkan prinsip *likedissolveslike*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat polaritas yang sama. (Suryani, 2015).

2.7.1 Jenis Pelarut

Senyawa dalam tanaman kadang-kadang dikategorikan berdasarkan polaritasnya, yakni senyawa polar dan non-polar. Oleh karena itu, penting untuk memahami karakteristik senyawa yang akan diisolasi. Dalam analisis senyawa

fenolik, seringkali pelarut polar yang digunakan, terutama untuk pemulihan polifenol dari matriks tanaman. Pelarut yang paling umum adalah etanol, metanol, aseton, dan etil asetat. Etanol dianggap sebagai pelarut yang baik untuk ekstraksi polifenol dan juga aman untuk dikonsumsi (Yohed, 2017).

2.7.2 Sistem Pelarut

Menurut Yohed, 2017; Umumnya, untuk mengekstraksi polifenol atau senyawa bioaktif lainnya dari tanaman, digunakan kombinasi pelarut organik dan air seperti etanol, metanol, aseton, dan dietil eter. Selama proses ekstraksi, persentase pemulihan bergantung pada jenis dan sistem pelarut serta metode ekstraksi yang digunakan. Pelarut dengan viskositas rendah memiliki densitas yang rendah, tetapi memiliki sifat difusi yang tinggi sehingga mampu menembus pori-pori tanaman dengan mudah untuk mengekstraksi senyawa bioaktif (Yohed, 2017).

2.8 Uji Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu bahan alam. Skrining fitokimia merupakan tahap awal yang dapat memberikan gambaran tentang kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti. Skrining fitokimia dapat dilakukan, baik secara kualitatif, semi kuantitatif, maupun kuantitatif sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Metode skrining fitokimia kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan reagen tertentu. Hal penting yang mempengaruhi proses skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak tepat memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak tertarik dengan baik dan sempurna. (Kristianti *et al.*, 2017). Maka pemilihan senyawa yang baik dapat mempengaruhi hasil yang diuji.

2.9 Instrumen Spektrometer UV-VIS

Pada penelitian ini, uji DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 Nano meter menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penurunan nilai absorbansi tersebut merupakan akibat dari penurunan intensitas warna larutan, yaitu dari ungu menjadi kuning.

Penurunan intensitas warna tersebut terjadi akibat adanya penambahan radikal hidrogen dari senyawa antioksidan terhadap elektron yang tidak berpasangan pada radikal nitrogen dalam struktur senyawa DPPH (Rorong, 2015).

Spektrofotometer jenis ini terdiri dari single beam dan double beam. Perbedaan keduanya adalah pada spektrofotometer double beam, pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi sampel atau larutan standar dengan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak terpengaruh oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur secara bersamaan (Waronodan Syamsudin, 2013).

Secara umum, sistem spektrofotometer terdiri dari sumber radiasi, monokromator, sel, fotosel, detektor, dan tampilan (display) :

2.9.1 Sumber Radiasi

Sumber radiasi berfungsi untuk menyediakan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas cahaya yang konstan selama pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-VIS adalah lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk memperoleh radiasi pada daerah ultraviolet hingga 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah cahaya tampak hingga inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm hingga sekitar 250 nm. (Waronodan Syamsudin, 2013)

2.9.2 Teknik Monokromator

Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatik yang diperoleh dengan melewatkannya ke dalam kuvet berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar. (suhartati 2017)

2.9.3 Teknik Sel atau Kuvet

Letakkan bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus terbuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi di area yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca tembus cahaya tetapi dapat juga terbuat dari plastik. Sel yang terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-VIS. Kuvet yang terbuat dari kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena kaca silikat dapat menyerap ultraviolet. (suhartati 2017)

2.9.4 Teknik Fotosel

Fotosel berfungsi untuk menangkap cahaya yang dipancarkan oleh zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang selanjutnya akan dihantarkan ke detektor. Detektor merupakan bahan yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya menjadi bentuk lain, yaitu energi listrik. (Anita, 2015).

2.9.5 Teknik Display

Layar mengubah cahaya listrik dari detektor menjadi pembacaan dalam bentuk meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Prinsip kerja spektrofotometer didasarkan pada hukum Lambert-Beer yaitu seberkas cahaya dilewatkan melalui suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sebagian cahaya diteruskan dan sebagian diserap oleh larutan. Pada spektrofotometer UV-VIS, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer cahaya tampak adalah analit yang berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna adalah analit yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan oksidasi sehingga analit menjadi berwarna. Tahap awal yang dilakukan dalam menentukan aktivitas antioksidan ini adalah menentukan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) larutan DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk menentukan panjang gelombang larutan DPPH yang dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Hal ini berkaitan dengan sensitivitas analisis, dimana perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi paling besar terjadi pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh sensitivitas analisis yang maksimum (Chow et al., 2014). Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk uji antioksidan ini adalah 514 dengan absorbansi maksimum 0,692 A dan inkubasi selama 30 menit dengan suhu kamar (Anita, 2015).

Spektrum elektromagnetik terbagi menjadi beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diserap oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang

diserap dapat menunjukkan struktur senyawa yang sedang dipelajari. Spektrum elektromagnetik mencakup daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi hingga gelombang mikro. (Marzuki Asnah, 2013).

Spektrum serapan di daerah ultraviolet dan tampak umumnya terdiri dari satu atau lebih pita serapan lebar. Semua molekul dapat menyerap radiasi di daerah UV-tampak. Oleh karena itu, molekul-molekul tersebut mengandung elektron, baik yang digunakan bersama maupun tidak, yang dapat tereksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang di mana penyerapan terjadi bergantung pada seberapa erat elektron terikat dalam molekul. Elektron dalam ikatan kovalen tunggal terikat erat dan radiasi berenergi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan untuk mengeksitasinya. (Wunas, 2014).

Keunggulan utama metode spektrofotometri adalah menyediakan cara yang sederhana untuk menentukan jumlah zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, di mana angka yang terbaca langsung terekam oleh detektor dan dicetak dalam bentuk angka digital atau grafik yang telah diregresikan. (Yahya S, 2013).

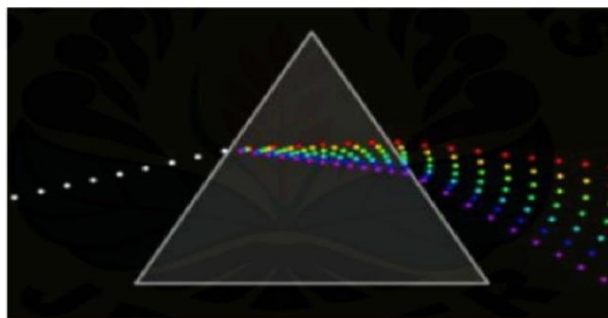
Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari : Sumber cahaya –monokromatis –sel sampel –detector- read out.



Gambar 2.3 Cahaya pembacaan spektrofotometer (Sumber : Arsyad 2013)

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber cahaya polikromatik berfungsi sebagai sumber cahaya polikromatik dengan berbagai panjang gelombang.
2. Monokromator mengubah cahaya dari sumber cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik dengan bertindak sebagai penyeleksi panjang gelombang. Monokromator disebut sebagai dispersi atau penyebar cahaya pada gambar di atas. Hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel saat dispersi hadir. Hanya cahaya hijau yang mengalir melalui pintu keluar pada gambar di atas. Gambar tersebut mengilustrasikan bagaimana cahaya menyebar atau terdispersi.:



Gambar 2.4 Gambar cahaya pembacaan spectrophotometer (Arsyad 2013)

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat untuk meletakkan sampel UV, VIS dan UV VIS dengan menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau kaca.
4. Detektor berfungsi untuk menangkap cahaya yang ditransmisikan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
5. Read out adalah sistem pembacaan yang menangkap besarnya sinyal listrik yang datang dari detektor.

2.10 Uraian Bahan

2.10.1 Asam asetat anhidrida (FI Eds III,647)

Nama resmi	: Acidum acetic anhydrida
Nama lain	: Asam asetat anhidrida
Rumus molekul	: $\text{CH}_3 (\text{CO})_2\text{O}$

Pemerian	: Cairan bening tidak berwarna, berbau tajam, mengandung tidak kurang dari 95 % $C_4H_6O_3$
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat
Kegunaan	: Pelarut asam salisilat dan pemberian gugus pada asetil dan aspirin

2.10.2 Asam sulfat (FI Eds III, 58)

Nama resmi	: Acidum sulfuricum
Nama lain	: Asam sulfat
Rumus molekul	: H_2SO_4
Bobot molekul	: 98,07
Pemerian	: Cairan kental seperti minyak korosif, tidak berwarna, yang menghasilkan panas ketika dicampur dengan air.
Kelarutan	: Mudah tercampur dengan air dan etanol, menimbulkan panas.
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat
Kegunaan	: Sebagai katalisator

2.10.3 Asam klorida (FI Eds III, 53)

Nama resmi	: Acidum hydrochloridum
Nama lain	: Asam klorida
Rumus molekul	: HCl
Bobot molekul	: 36,5
Pemerian	: Larutan tidak berwarna, berasap, bau merangsang
Kelarutan	: Mudah larut dalam air
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik
Kegunaan	: Sebagai pereaksi protein

2.10.4 Besi (III) klorida (FI Eds III, 659)

Nama resmi	: Ferri klorida
Nama lain	: Besi (III) klorida
Rumus molekul	: $FeCl_3$

Pemerian	: Hablur / hablur serbuk hitam kehijauan, bebas warna jingga dari garam hidrat yang telah terpengaruhi oleh kelembapan
Kelarutan	: Larut dalam air, larutan berfluoresensi berwarna jingga Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik
Kegunaan	: Sebagai pereaksi

2.10.5 Vitamin C (F1 Eds VI, 2020)

Nama lain	: Asam Askorbat
Berat molekul	: 176,13
Rumus molekul	: $C_6H_8O_6$
Pemerian	: Berbentuk serbuk berwarna putih atau agak kuning, tidak berbau dan memiliki rasa asam. Vitamin C akan rusak jika terkena cahaya matahari langsung dan lambat laun akan berubah warna menjadi berwarna gelap
Kelarutan	: Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol (95 %) dan sukar larut dalam kloroform p, eter p dan benzen p.
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya
Kegunaan	: Sebagai sampel

2.10.6 DPPH (Molyneux, 2004)

Nama lain	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
Rumus molekul	: $C_{18}H_{12}N_5O_6$
Bobot molekul	: 394,32
Pemerian	: Bubuk kristal berwarna gelap
Kelarutan	: Larut dalam air
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat (suhu – 200 C)

2.10.7 Kloroform (FI Eds III, 151)

Nama resmi	: Chloroformum
Nama lain	: Kloroform

Rumus molekul	: CHCl_3
Bobot molekul	: 119,38
Pemerian	: Cairan tidak berwarna, mudah menguap, bau khas, rasa manis dan membakar
Kelarutan	: Larut dalam air, membentuk cairan jernih dan tidak berwarna
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik
Kegunaan	: Sebagai pelarut

2.10.8 Dragendrof (Raal *et al.*, 2020)

Komposisi	: Larutan kalium bismuth iodide yang dibuat dari bismuth nitrat basah ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$), asam tartarat, dan kaliumiodida (KI)
-----------	--

2.10.9 Bourchardat (Takaeb & Leo, 2023)

Komposisi	: asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat
-----------	--

2.10.10 Mayer (FI Eds III, 151)

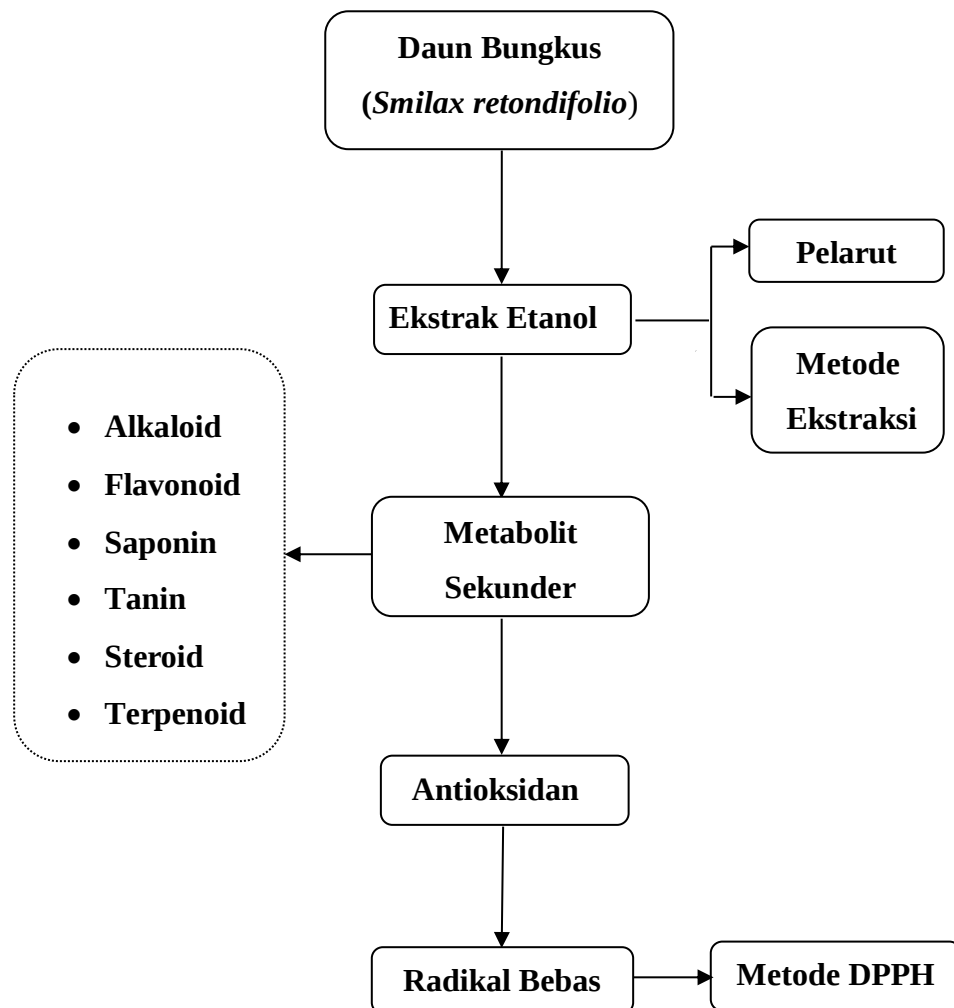
Nama resmi	: HYDRAGYRI SUBCHLORIDIUM
Nama lain	: Raksa (1) Klorida, kalomel
Pemerian	: Serbuk halus, berat, putih, tidak berbau, hamper tidak berasa. Jika terkena udara lambat laun berubah menjadi wama tua
Kelarutan	: Praktis tidak larut dalam air, dalam etanol (95%) p, dalam eter P, dan dalam asam encer dingin
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya
Khasiat	: Laksativum KI

2.10.11 Etanol (Ditjen POM 1995, Rowe, ddk., 2009)

Nama resmi	: Aethanolum
Nama lain	: Etanol, Alkohol
RM	: $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Pemerian	: Cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas, rasa panas, mudah

	terbakar dengan memberikan nyala biru yang tidak berasap.
Kelarutan	: Sangat mudah larut dalam air dalam kloroform P, dalam eter P.
Pemyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari cahaya, di tempat sejuk, jauh dari nyala api.
Kegunaan	: Sebagai pelarut

2.11 Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dalam pelarut etanol dengan menggunakan metode DPPH.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Desember 2023 – April 2024 di Laboratorium Farmakologi Farmasi UNIMUDA Sorong.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Tanaman daun bungkus yang digunakan berasal dari Kabupaten sorong papua barat daya yang populasinya banyak tumbuh di hutan Papua. Sebanyak 1,5 kg daun bungkus dari tanaman tersebut disiapkan yang diperoleh dari Kabupaten Sorong Papua Barat Daya. Sebanyak 210 gram sampel daun bungkus yang akan dibuat menjadi ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun bungkus.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktifitas antioksidan yang di tunjukkan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*).

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah daun bungkus.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer, mammert waterbath, oven, timbangan analitik, toples maserasi, wadah, corong buchner, alat-alat gelas, labu ukur, erlenmeyer, gunting, aluminium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet, pipet tetes, pipet volume, mikro pipet, kaca arloji, blender, tabung reaksi, rak tabung, penyaring, cawan persolin, desikator dan hp.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah daun bungkus, kertas saring, etanol 96%, senyawa DPPH (*2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl*), Etanol pa, HCl 2N, HCl pekat, FeCl₃ asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, reagen dragendorff, mayer, bouchardat, Vitamin C.

3.6 Prosedur Kerja

Pengujian aktivitas antioksidan daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dilakukan meliputi : penyiapan bahan, pembuatan ekstrak, uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, analisa data.

3.6.1. Penyiapan bahan

Sebanyak 1,5 kg daun segar disiapkan dari tanaman daun bungkus yang Diperoleh dari Kabupaten Sorong, Papua Barat, daun-daun tersebut kemudian dibersihkan terlebih dahulu untuk membuang kotoran yang mungkin menempel, setelah itu dipotong-potong kecil dan dibiarkan kering di udara untuk mengurangi kadar air. Sampel daun yang sudah kering kemudian digiling dalam blender, diayak, dan dimasukkan ke dalam wadah.

3.6.2. Pembuatan Ekstrak Daun Bungkus

Pembuatan ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dilakukan menggunakan metode meserasi. Sebanyak 210 gram sampel daun bungkus di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan merendam 210 gram sampel kedalam pelarut etanol 96% 2 L selama 72 jam dalam wadah tertutup. Meserasi dilakukan sampai filtrate terlihat kurang berwarna (dilakukan pengulangan meserasi selama 2 kali) selama proses meserasi berlangsung, lakukan pengadukan sesering mungkin agar memastikan semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Hasil meserasi Kemudian di saring untuk memisahkan filtrate dan residunya lalu filtrate yang diperoleh dikumpulkan dan dievaporasi dengan waterbath pada suhu 60°C, sehingga diperoleh ekstrak etanol daun bungkus kental yang masih dapat dituang. Lalu ekstrak di timbang dan simpang untuk mengetahui beratnya dan disimpang untuk pengujian selanjutnya (Muslihin *et al.*, n.d.).

3.6.3 Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia dari ekstrak daun bungkus untuk pengecekan kandungan senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, flavanoid, tani,dan saponin, perubahan warna menunjukkan adanya reaksi yang diinginkan (Nurbani *et al.*, 2020).

a) Pembuatan Larutan Uji Fitokimia

Pembuatan larutan uji skrining fitokimia daun bungkus dilakukan dengan melarutkan 250 mg ekstrak daun bungkus kedalam 25 ml etanol 96% (N.M.P, I.N.A and N.K, 2014).

b) Alkaloid

Sebanyak 2 ml sampel dicampur dengan 2 ml HCL 2% dan dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan ditetaskan dengan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendroff, masing-masing sekitar 2-3 tetes. Zat alkaloid diidentifikasi dengan munculnya endapan putih atau kuning, endapan coklat tua, dan endapan dengan rona merah bata. (Ningsih 2017).

c) Steroid dan terpenoid

Siapkan larutan uji sebanyak 2 ml pereaksi Liebermann-Burchard kemudian dicampurkan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 dan asam sulfat pekat sebanyak 0,5 ml .Terbentuknya warna merah muda,ungu,dan hijau biru dinyakatan posifit (Masriani 2017).

d) Flavanoid

Siapkan larutan uji. Sebanyak 5 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan 2 hingga 4 tetes asam klorida pekat. Selanjutnya, campurkan dan kocok isinya. Munculnya warna jingga menandakan adanya flavonoid yang termasuk dalam kategori flavonol dan flavanon. (Ningsih 2017). Maka menunggu sampai pada hasil yang menunjukkan adanya senyawa flavanoid.

e) Tanin

Siapkan larutan uji sebanyak 1 ml kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan Sebanyak 2-3 tetes FeCl_3 dan dicampur hingga homogen. Hasil yang baik ditunjukkan dengan munculnya warna biru tua atau kehijauan (Ningsih 2017).

f) Saponin

Siapkan larutan uji ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml lalu dikocok tabung reaksi ke atas dan ke bawah dengan waktu 10 detik lalu diamkan selama 10 detik, Jika terbentuk busa yang naik antara 1 dan 10 cm dalam waktu 10 menit, ini menunjukkan adanya saponin. Saat Anda menambahkan setetes HCl 2N, busa akan tetap utuh (Ningsih 2017).

3.6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a) Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM

Dilarutkan 0,0157 gram DPPH kedalam labu tentukur yang berukuran 100 mL dengan metanol p.a sampai tanda batas (Studi Farmasi *et al.*, 2024).

b) Penentuan λ maks DPPH

Dipipet 1 mL DPPH dan cukupkan volumenya 5 mL menggunakan etanol p.a. Biarkan selama 30 menit di tempat gelap. Ukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400 - 600 nm (Muslihin *et al.*, 2022).

c) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun bungkus

Larutan pengujian yang mengandung 1000 ppm ekstrak etanol dari daun pembungkus disiapkan dengan mengukur 10 mg ekstrak ke dalam labu ukur 10 ml. Larutan ini kemudian dilarutkan dalam pelarut etanol p.a, dengan mengatur volume total menjadi 10 ml. Selanjutnya, 0,125 ml, 0,25 ml, 0,375 ml, 0,5 ml, dan 0,625 ml dari masing-masing larutan ekstrak diambil dan diencerkan lebih lanjut dalam labu ukur 5 ml untuk membuat larutan dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm. (Purwanto *et el*, 2017).

Dipipet 5 ml dari masing-masing konsentrasi, lalu tambahkan 1 ml larutan DPPH 0,4 ke dalam larutan uji. Tutup dan biarkan selama 30 menit. Lalu, gunakan spektrofotometer tampak yang diatur pada panjang gelombang 516 nm untuk mengukur absorbansi.

d) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Vitamin C

Larutan vitamin C 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg vitamin C yang dilarutkan dalam etanol sambil dihomogenkan, kemudian volumenya dicukupkan dengan etanol p.a hingga mencapai 10 ml. Larutan vitamin C 1000

ppm tersebut kemudian diencerkan hingga mencapai 100 ppm. Untuk menguji aktivitas antioksidan larutan vitamin C, pipet larutan stok 100 ppm sebanyak 0,005 ml, 0,01 ml, 0,015 ml, 0,02 ml, 0,025 ml masing-masing ke dalam labu ukur 5 ml yang dibungkus aluminium foil, kemudian tambahkan 1 ml DPPH 0,4 mm, tepatkan volume dengan etanol hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm, dan 0,5 ppm. Tutup dan diamkan selama 30 menit. Berikutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer tampak pada panjang gelombang 516 nm. (Muslihin *et al.*, n.d.).

e) Analisis Data

Nilai IC₅₀, atau konsentrasi di mana 50% aktivitas DPPH hilang, merupakan metrik yang biasa digunakan untuk mengevaluasi hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Semakin rendah nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidannya (Marunung, 2021).

Persentase hambatan (IC₅₀) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

Keterangan

A kontrol : Absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel : Absorbansi sampel

Adapun rumus persamaan linier sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

a : Titik potong kurva pada sumbu y

b : Kemiringan kurva

x : Konsentrasi sampel

y : % inhibisi

Konsentrasi Penghambatan 50% (IC₅₀), atau konsentrasi sampel yang dapat mengurangi radikal DPPH hingga 50%, merupakan ukuran aktivitas antioksidan. Setelah mensubstitusi y = 50, nilai x menghasilkan nilai IC₅₀ (Marunung, 2021).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Tabel 4.1 Hasil Rendamen Ekstrak Daun Bungkus

Simplisia	Berat simplisia (gram)	Berat ekstrak (gram)	Berat sampel (kg)	Rendamen (%)
Daun Bungkus	210	14	1,5	6,67

Sampel daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) sebanyak 210 gram diekstraksi menggunakan metode meserasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 14 gram. Hasil rendamen ekstrak daun bungkus dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100$$

Tabel 4.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Reaksi	Hasil
1	Uji Alkaloid	Dragendroff	Terbentuk endapan berwarna coklat orange	+
		Mayer	Terbentuk endapan putih hingga kekuningan	+
		Bauchardat	Terbentuk endapan coklat	+
2	Uji Steriod	kloroform,asam	Terbentuk cincing hijau kebiruan	+
	Terpenoid	asetat,dan asam sulfat pekat	Terbentuk cincing hijau kebirua	-
3	Uji Flavonoid	HCl pekat	Terbentuk warna kuning jingga	+
4	Uji Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
5	Uji Saponin	HCl 2N	Terjadi buih	+

Keterangan: (+) Adanya metabolit sekunder
(-) Tidak ada senyawa metabolit sekunder

Skrining fitokimia dilakukan untuk melihat kandungan senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol daun bungkus. Pengujian dilakukan dengan menggunakan campuran dari beberapa reagen tertentu yang akan di campurkan dengan sampel uji. Hasil pengujian dapat dilihat dengan mengamati perubahan warna yang terjadi pada sampel uji (Nurbani *et al.*, 2020).

Tabel 4.3 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bungkus

No	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC-50 (µg/mL)
1	25	0,37	190,26
2	50	2,75	
3	75	16,68	
4	100	17,78	
5	125	31,99	

Tabel 4.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C

No	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)	Nilai IC-50 (µg/mL)
1	0,1	13,57	0,82
2	0,2	20,59	
3	0,3	26,24	
4	0,4	28,96	
5	0,5	33,94	

Tabel 4.3 dan 4.4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak dan vitamin C, absorbansi larutan akan semakin kecil. Sementara, semakin besar konsentrasi larutan, persen penghambat akan semakin tinggi. Hal tersebut terjadi karena semakin tinggi konsentrasi larutan, semakin banyak antioksidan yang terkandung di dalamnya (Lukiyono. *at el.*, 2023).

4.2 Pembahasan

4.2.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*)

Sampel daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) sebanyak 210 gram diekstraksi menggunakan metode meserasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak

14 gram. Hasil rendamen ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) dapat dilihat pada **Tabel 4.1**

Tanaman daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kabupaten Sorong Papua Barat Daya yang diperoleh dalam bentuk segar sebanyak 1,5 kg. Proses pembuatan simplisia diawali dengan sortasi basah untuk memisahkan bahan baku dari kotoran dan benda asing lainnya. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C. . Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air agar simplisia tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lama (Febri Fatwami *et al.*, 2023). Penggunaan oven dianggap lebih baik untuk menjaga kandungan fitokimia simplisia, karena selain mempercepat proses pengeringan, suhu yang digunakan juga dapat dikontrol. Umumnya, suhu pengeringan simplisia berkisar antara 30°-90°C, dengan suhu optimal tidak lebih dari 60°C untuk menghindari perubahan atau kerusakan pada sampel tanaman (Warnis *et al.*, 2020).

Setelah proses pengeringan, dilanjutkan dengan proses penyerbukan simplisia yang diperoleh seberat 210 gram. Proses penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas area kontak antara simplisia dan pelarut, memungkinkan pelarut lebih mudah menembus dinding sel dan melarutkan senyawa aktif (Diniatik, 2015).

Maserasi adalah metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini. Alasan penggunaan metode maserasi karena metode ini cocok untuk ekstraksi dalam skala kecil maupun untuk skala industri. Metode ini aman digunakan untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan seperti senyawa flavonoid (Narsih & Agato, 2018).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Trifiani (2012) menyatakan bahwa etanol digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang universal, polar, dan mudah diperoleh. Karena kemampuan ekstraksinya yang tinggi, daya serapnya yang tinggi, tidak beracun, dan selektif, etanol 96% dipilih untuk mengekstrak molekul polar, semipolar, dan nonpolar. Pelarut etanol 96% lebih mudah menembus dinding sel sampel dibandingkan pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga mendapatkan ekstrak yang pekat.

Hasil meserasi yang didapat dari proses ekstraksi 210 gram daun bungkus dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dengan etanol 96% selama 72 jam yang dilakukan selama 2x pengulangan yaitu ekstrak cair yang selanjutnya dilakukan penguapan dengan waterbats sampai memperoleh ekstrak kental sebanyak 14 gram dan memperoleh rendamen sebesar 6,67 %.

4.2.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Pengujian alkaloid dengan 3 pereaksi yaitu pereaksi dragendrof, meyer dan bouchart. Hasil pengujian alkaloid dengan pereaksi dragendrof, terbentuknya endapan warna coklat orange menunjukkan positif mengandung alkaloid. . Dalam pereaksi Dragendroff, kalium iodida dan bismut nitrat bereaksi menghasilkan endapan bismut (III) iodida, yang kemudian larut dalam kalium iodida membentuk kompleks kalium tetraiodobismutat yang mengendap. (Dewi,Saptawati and Rachmad, 2021). Pengujian alkaloid dengan reaksi meyer, terbentuknya endapan warna putih kekuningan menunjukkan positif mengandung alkaloid. Penambahan pereaksi Mayer akan memungkinkan nitrogen dalam alkaloid untuk bergabung dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) untuk menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. (Dewi, Saptawati and Rachmad, 2021). Hasil pengujian alkaloid dengan pereaksi Bauchardat, terbentuknya endapan coklat menunjukkan positif mengandung alkaloid. berwarna coklat. Bila ion logam K^+ dan alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat, maka akan terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang merupakan penyebab terjadinya endapan. (Sulistyarini, 2019).

Hasil identifikasi terpenoid dan steroid menggunakan uji Lieberman-Burchard (asetat anhidrat : H_2SO_4 pekat) yang memberikan warna merah untuk terpenoid dan hijau untuk steroid (Kusumo, 2022). Hasil dari pengujian terpenoid dan steroid pada ekstrak etanol daun bungkus dilihat dengan terbentuknya cincing hijau kebiruan yang menunjukan positif mengandung steroid. Hal ini didasarkan pada fakta bahwa steroid dapat menghasilkan warna melalui H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrat. (Illing *et al.*, 2017). Dengan mengoksidasi molekul triterpenoid atau steroid, ikatan rangkap terkonjugasi dihasilkan, yang mengakibatkan perubahan warna. (Sulistyarini, 2019).

Uji skrining fitokimia pada flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium dan HCl pekat. Penambahan bubuk magnesium dan HCl pekat bertujuan untuk memutus ikatan glikosida pada flavonoid. Ikatan glikosida tersebut perlu direduksi agar flavonoid dapat terdeteksi. Hasil uji menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Muthmainnah, 2017) Hasil dari pengujian flavonoid ini dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun bungkus positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning ke merah jingga. Uji flavonoid pada penambahan Mg dan HCL pekat yang dapat mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid yang menyebabkan perubahan warna merah jingga, flavonoid sendiri berfungsi sebagai anti virus, antiinflamasi, anti penuaan, dan antioksidan (Yenni ddk, 2019).

Hasil dari pengujian tanin pada ekstrak etanol daun bungkus uji tanin positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang terjadi saat larutan FeCl_3 ditambahkan warnanya menjadi hijau kehitaman karena salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin terkondensasi. Daun bungkus positif mengandung senyawa tanin, sebagaimana dibuktikan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Uji senyawa tanin menggunakan reagen FeCl_3 untuk menentukan apakah ekstrak mengandung gugus fenol. (Muthmainnah, 2017).

Hasil dari pengujian saponin pada ekstrak etanol daun bungkus positif mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya buih atau busa. Adanya glikosida yang dapat menghasilkan busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya ditunjukkan dengan munculnya busa ± 1 menit setelah pengocokan, yang merupakan hasil positif. Penambahan HCL untuk meningkatkan polaritas membuat peningkatan gugus hidrofilik lebih stabil, dan busa yang diperoleh lebih stabil (Nurbani *et al.*, 2020)

Hasil skrining fitokimia menyatakan bahwa ekstrak etanol daun bungkus memiliki kandungan senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, tanin, dan saponin.

4.2.3 Pengukuran Absorbansi

Spektrofotometer ultraviolet-visible (UV-Vis), yang menggabungkan spektrofotometri ultraviolet dan visible, menggunakan dua jenis cahaya, yaitu cahaya UV dan cahaya Visible, untuk mengukur absorbansi ekstrak uji. Prinsip

yang digunakan didasarkan pada penyerapan cahaya, di mana atom dan molekul akan berinteraksi dengan cahaya untuk mencapai efek ini. (Ahriani *et al.*, 2021).

Uji kuantitatif DPPH dapat diamati dengan menentukan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun bungkus, dengan vitamin C sebagai larutan pembanding dan kontrol positif. Vitamin C digunakan sebagai larutan pembanding karena memiliki gugus hidroksil bebas yang berperan sebagai antioksidan sekunder yang efektif dalam mencegah berbagai radikal bebas ekstraseluler, menghentikan reaksi berantai dan memiliki gugus polihidroksi yang meningkatkan aktivitas antioksidan (Muslihin *et al.*, 2022).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol pro analisis karena pelarut ini mempunyai kemurnian yang sangat tinggi sampai 99,95 % dan cocok digunakan untuk menganalisa atau praktek khusus dalam suatu penelitian (Angelia *et al.*, 2022). Analisis spektrofotometri menggunakan kurva standar yang dibuat berdasarkan hukum “Lambert-Beer” menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan absorbansi dengan panjang gelombang tertentu (Prasetyo *et al.*, 2021). Panjang gelombang maksimum DPPH ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis, didapatkan panjang gelombang sebesar 590 nm pada rentang panjang gelombang 400 - 600 nm. Panjang gelombang maksimum untuk pengukuran DPPH berkisar antara 515 - 520 nm (Putri *et al.*, 2023). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bungkus dinyatakan sebagai persentase penghambatan ekstrak terhadap radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} , yang menunjukkan konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH, digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan.

4.2.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

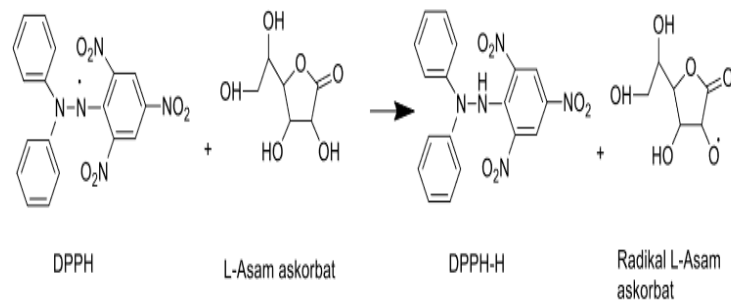
Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (diphenylpicrylhydrazyl) menjadi senyawa non-radikal (diphenylpicrylhydrazine). Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radika bebas tereduksi oleh adanya antioksidan) (Setiawan *et al.*, 2018). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pemilihan metode ini karena

merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan. Larutan radikal bebas DPPH memiliki atom nitrogen yang tidak berpasangan. Reaksi DPPH dengan atom hidrogen yang terdapat dalam antioksidan dapat membuat larutan DPPH menjadi berkurang reaktivitasnya yang ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu menjadi kuning (Amanda *et al.*, 2019)

Pembanding dalam penelitian ini adalah Vitamin C. Penggunaan Vitamin C sebagai pembanding, karena Vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang dapat menangkal radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, dan aktifitas antioksidannya tinggi. Vitamin C memiliki gugus hidroksil yang dapat digunakan sebagai penangkap radikal bebas. (Yahya & Nurrosyidah, 2020).

Pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} sebagai konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50%. Hasil analisis ekstrak etanol daun bungkus menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 190,26 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Li'aini *et al.* (2021), potensi senyawa antioksidan yang diuji nilainya menggunakan metode DPPH dapat dikategorikan berdasarkan nilai IC_{50} . IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ dianggap sebagai antioksidan yang sangat kuat, IC_{50} sebesar 50-100 $\mu\text{g/mL}$ dianggap kuat, IC_{50} sebesar 100-150 $\mu\text{g/mL}$ dianggap sedang, dan IC_{50} sebesar 150-200 $\mu\text{g/mL}$ tergolong lemah. Ekstrak etanol dari daun bungkus memiliki aktivitas antioksidan yang dianggap lemah karena nilai IC_{50} -nya melebihi 150 $\mu\text{g/mL}$. (Lukiyono. *at el.*, 2023).

Pengujian aktivitas antioksidan vitamin C, Hasil Uji aktivitas antioksidan larutan pembanding vitamin C menunjukkan IC_{50} sebesar 0,82 $\mu\text{g/mL}$. Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, terbukti dari nilai IC_{50} di bawah 50 $\mu\text{g/mL}$. Semakin tinggi konsentrasi larutan pembanding dan semakin rendah nilai absorbansinya, maka semakin tinggi pula nilai aktivitas antioksidannya. (Sari & Sari, 2023).



Gambar 4.6 Mekanisme Reaksi Vitamin C dengan DPPH (Latifah, 2017)

Mekanisme Antioksidan Vitamin C dan Radikal Bebas: Vitamin C mudah teroksidasi oleh radikal bebas karena memiliki ikatan rangkap, karena adanya gugus $\text{OH}-\text{C}=\text{C}-\text{OH}$, radikal bebas tersebut melepaskan atom hidrogen, sehingga menciptakan muatan negatif pada atom oksigen, terdisosiasi melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak berbahaya. (Lukiyono. *at el.*, 2023).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada pengujian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- a. Ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax Rotundifolia*) positif mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, tanni, dan saponin
- b. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bungkus menggunakan metode DPPH tergolong lemah dengan didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 190,26 µg/mL.

5.2 Saran

- a. Penelitian tentang antioksidan ekstrak daun bungkus dengan pelarut etanol 96% harus dilakukan dengan teknik selain metode DPPH.
- b. Penelitian lanjutan diperlukan agar dapat mengetahui manfaat lain dari ekstrak etanol daun bungkus selain sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelia, A., Putri, G. R., Shabrina, A., & Ekawati, N. (2022). Formulasi Sediaan Spray Gel Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis* L.) sebagai Anti-Aging. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 2(1), 44–53. <https://doi.org/10.14710/genres.v2i1.13213>
- Asma, A., Rohman, A., Santosa, D., Rafi, M., Aminah, N. S., Insanu, M., & Irnawati, I. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenolik Total Ekstrak Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 634–643. <https://doi.org/10.22146/jfps.4955>
- Ardawiah, S. (2015). Pengaruh Variasi Pencampuran Kulit Buah Naga Terhadap Sifat Fisik, Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan pada Puding. *Sustainability (Switzerland)*, 11(1), 1–1
- Arsyad. (2013). Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*.
- Anonim. (2017). Isolasi Pektin Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Abb) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. *Manajemen Pengembangan Bakat Minat Siswa Di Mts AlWathoniyyah Pedurungan Semarang*, 23.
- Anita. (2015) Analisis Uji Suhu Senyawa Antioksidan. *Metodologi Penelitian Skripsi*. Rake Sarasin, 36.
- Bulla. (2020). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). (*Analysis of Secondary Metabolite Compounds and Antioxidant Activity Test of Bidara Leaves (Ziziphus Spina-Christi L.) Extract*) Nandang, 4(2), 11–20.
- Basma (2011). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 44–59.

Barbas (2012). Antioksidan BHT. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., 9–38

Chairunnisa, S. *et al.* (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>

Chow (2003). *Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Pisang Raja (Musa AAB)*. 6–19. [http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/123362-S09092fk-Perbandingan aktivitas-Literatur.pdf](http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/123362-S09092fk-Perbandingan%20aktivitas-Literatur.pdf)

Depkes RI. (2014). Panduan Manajemen Antioksidan: Di Masyarakat. Jakarta : Depkes RI

Ginting. (2009). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Universitas Indonesia*, 2.

Handayani. (2010). Isolasi Pektin Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Abb) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. *Manajemen Pengembangan Bakat Minat Siswa Di Mts Al-Wathoniyyah Pedurungan Semarang*, 2–3

Indonesia Jurnal Of Antropology. (2018). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.

Jonatan. (2016). Antioksidan: Mekanisme Kerja dan Fungsinya dalam Tubuh Manusia. In *Journal of Agro-Based Industry* (Vol. 28, Issue 2, pp.44–55).

Joice. (2010). Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) Ekstrak Metanol dan Fraksi-fraksinya dari Daun Rumpun Knop (*Hyptis capitata* Jacq.). *Jurnal Atomik*, 4(1), 36–40.

Kate. (2014). Skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah carica pubescens lenne & k. koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 5(2), 73–82.

Kristiyani. (2008). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik dari

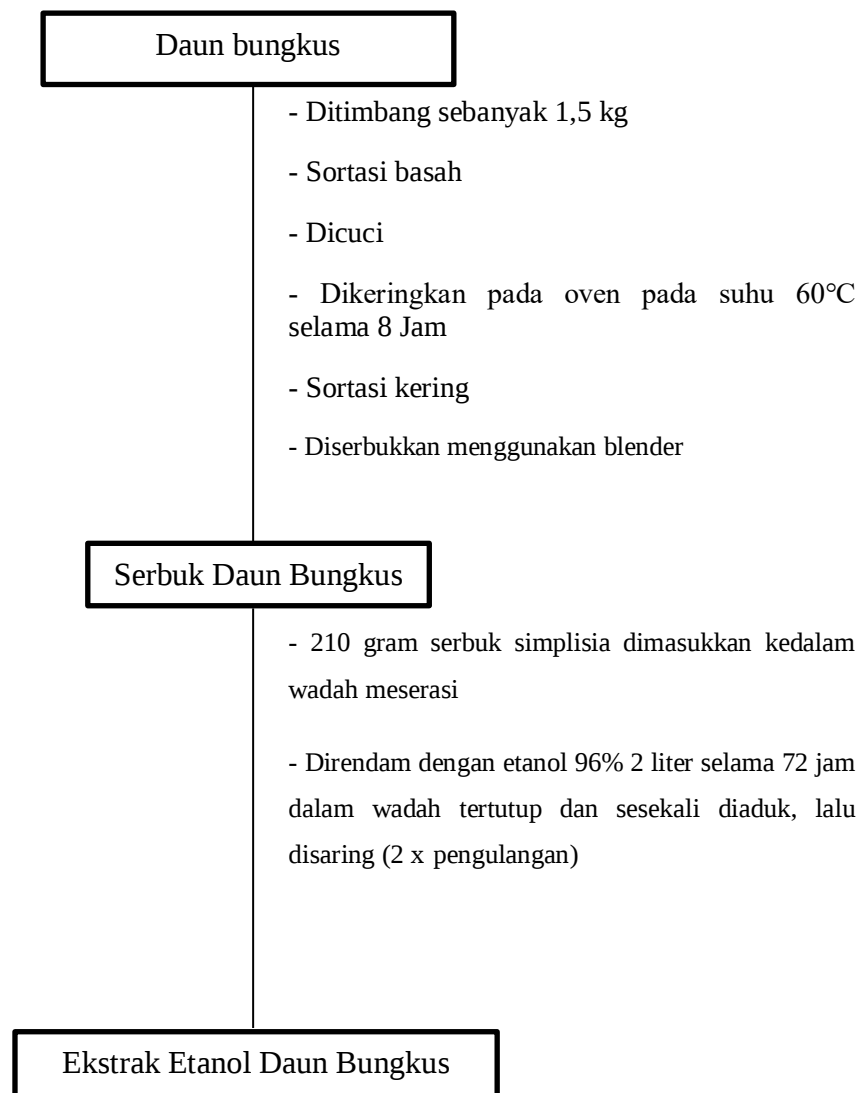
- Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 04. Hal. 149-155
- Kumalaningsih. (2015). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringaoleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2),115-118
- Linder. (2017). Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan VitaminA, C, E dengan metode DPPH
- Lukiyono. *et al.* (2023) ‘uji aktivitas antioksidan nanopartikel kitosan dari limbah kulit udang (*Litopenaeus vannamei*) menggunakan metode dpvh’, *Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya*, 1(1), pp. 1–1.
- Luo H. Extraction of Antioxidant Compounds from Olive (*Olea europaea*) Leaf. [Albany, New Zealand]: Massey University; 2011.
- Marzuki, Asnah. (2012). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.
- Marjoni, S., Baits, M., & Nadia, A. (2016). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringaoleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP(*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2),115-118.
- Mukhriani. (2014). Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH
- Miller. (1996). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.
- Moluneux. (2016) *Identifikasi fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol tauge*. : manado : unsrat 2302-2493
- Hafsyah, N. (2021). *Laporan Tugas Akhir Nurani Hafsyah 191FF04052 ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BATANG BROTOWALI (Tinospora crispa (L.) DENGAN METODE CUPRAC*.
- Kurniawati, D., & Nastiti, K. (2020). Potentials of Betel Leaf Infusion (*Piper betle* L), Lime Peel Extract (*Citrus aurantifolia*) and Bundung Extract

- (*Actinoscirpus grossus*) as Candidiasis Therapy. *Berkala Kedokteran*, 16(2), 95. <https://doi.org/10.20527/jbk.v16i2.9220>
- M, M. A., Yusnita, R., & Rante, H. (2022). *Isolation and Identification of Endophytic Fungi Producing of Antioxidant Compound from Azadirachta indica A . juss Based on gen 18s rRNA*. 45(01), 3635–3644.
- Ningsih, Dian Riana. 2017. “Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida Albicans* Dan Identifikasi Golongan Senyawanya.” *Jurnal Kimia Riset* 2(1):61. doi: 10.20473/jkr.v2i1.3690.
- Nur Endah, S. R. (2017). Pembuatan Ekstrak Etanol dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl.). *Jurnal Hexagro*, 1(2), 29–35.
- Pranata, S., Angkasawati, T., & Prasodjo, R. (2021). Daun Bungkus dan Hegemoni Kaum Laki-laki: Riset Etnografi di Masyarakat Irarutu, Papua Barat. *Jurnal Antropologi Indonesia*, 41(2), 48–63. <https://doi.org/10.7454/ai.v41i2.13088>
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 71. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i2.1936>
- Raal, A., Meos, A., Hinrikus, T., Heinämäki, J., Romāne, E., Gudienė, V., Jakštas, V., Koshovyi, O., Kovaleva, A., Fursenco, C., Chiru, T., & Nguyen, H. T. (2020). Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia. *Pharmazie*, 75(7), 299–306. <https://doi.org/10.1691/ph.2020.0438>
- Studi Farmasi, P., Sains Terapan, F., & Pendidikan Muhammadiyah Sorong, U. (2024). *JURNAL PROMOTIF PREVENTIF Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi*

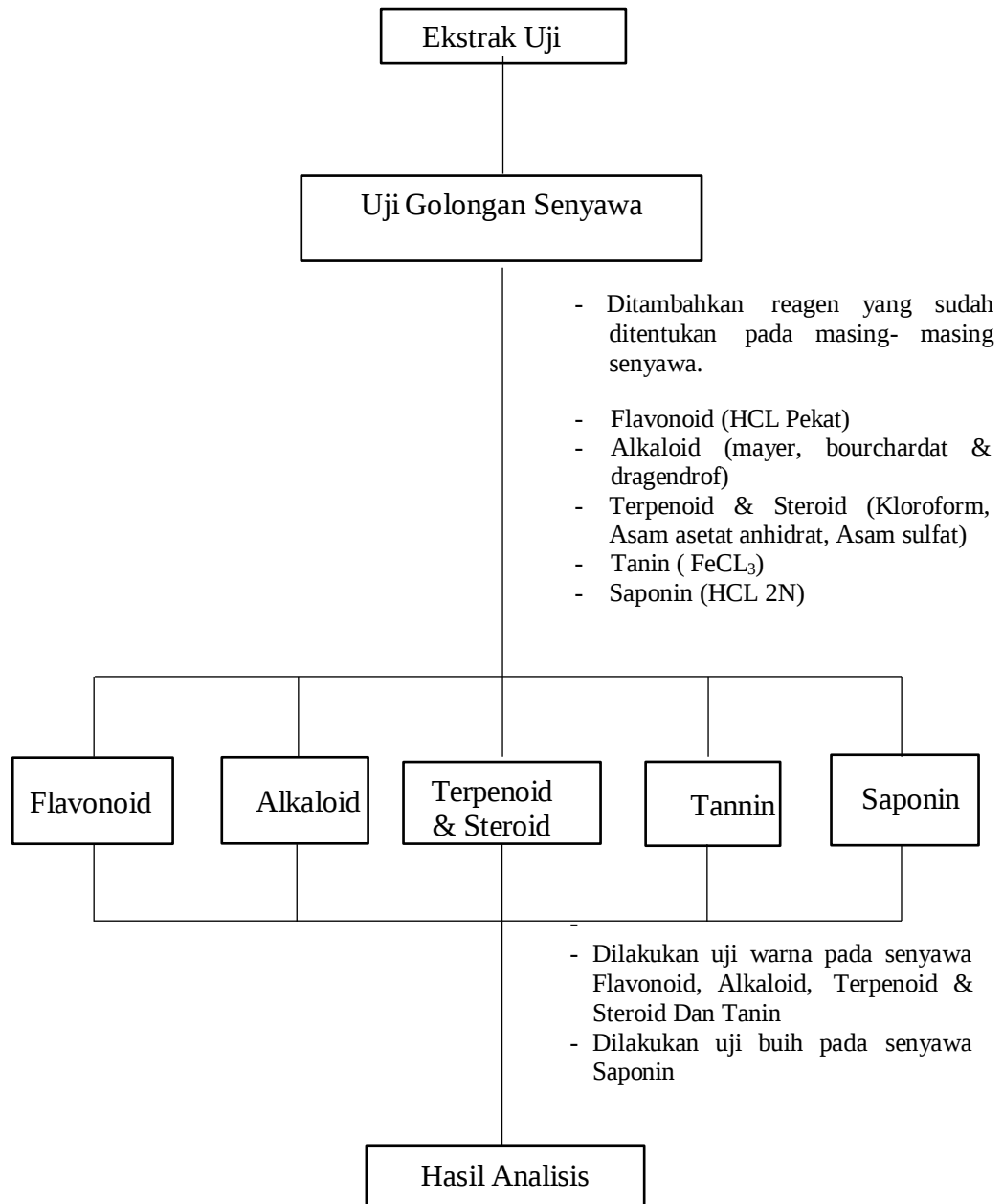
- Ekstrak Etanol Tali Kuning (Anamirta cocculus) Dengan Metode DPPH Antioxidant Activity Test of Fraction Extract Ethanol Tali Kuning (Anamirta cocculus) Using the DPPD Method Rika Erawati, AM. Musl. 7(2), 381–391.*
<http://journal.unpacti.ac.id/index.php/JPP>
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP KADAR FENOLIK DARI EKSTRAK TONGKOL JAGUNG (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87
<https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Syahara, S., & Vera, Y. (2020). Penyuluhan pemanfaatan buah Tomat sebagai produk kosmetik antioksidan alami di desa Manunggang Julu. *Jurnal Education and Development*, 8(1), 21–22.
- Takaeb, M. J., & Leo, M. I. (2023). Identifikasi Metabolit Sekunder pada Sopi Kualin (SOKLIN) yang Dibuat Dengan dan Tanpa Fermentasi di Desa Kualin Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 6(2), 111–116. <https://doi.org/10.24246/juses.v6i2p111-116>
- Yohed, I. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut dan Temperatur Terhadap Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, dan Aktivitas Antioksidan di Ekstrak Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*). *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.

Lampiran 1. Bagan alur kerja penelitian

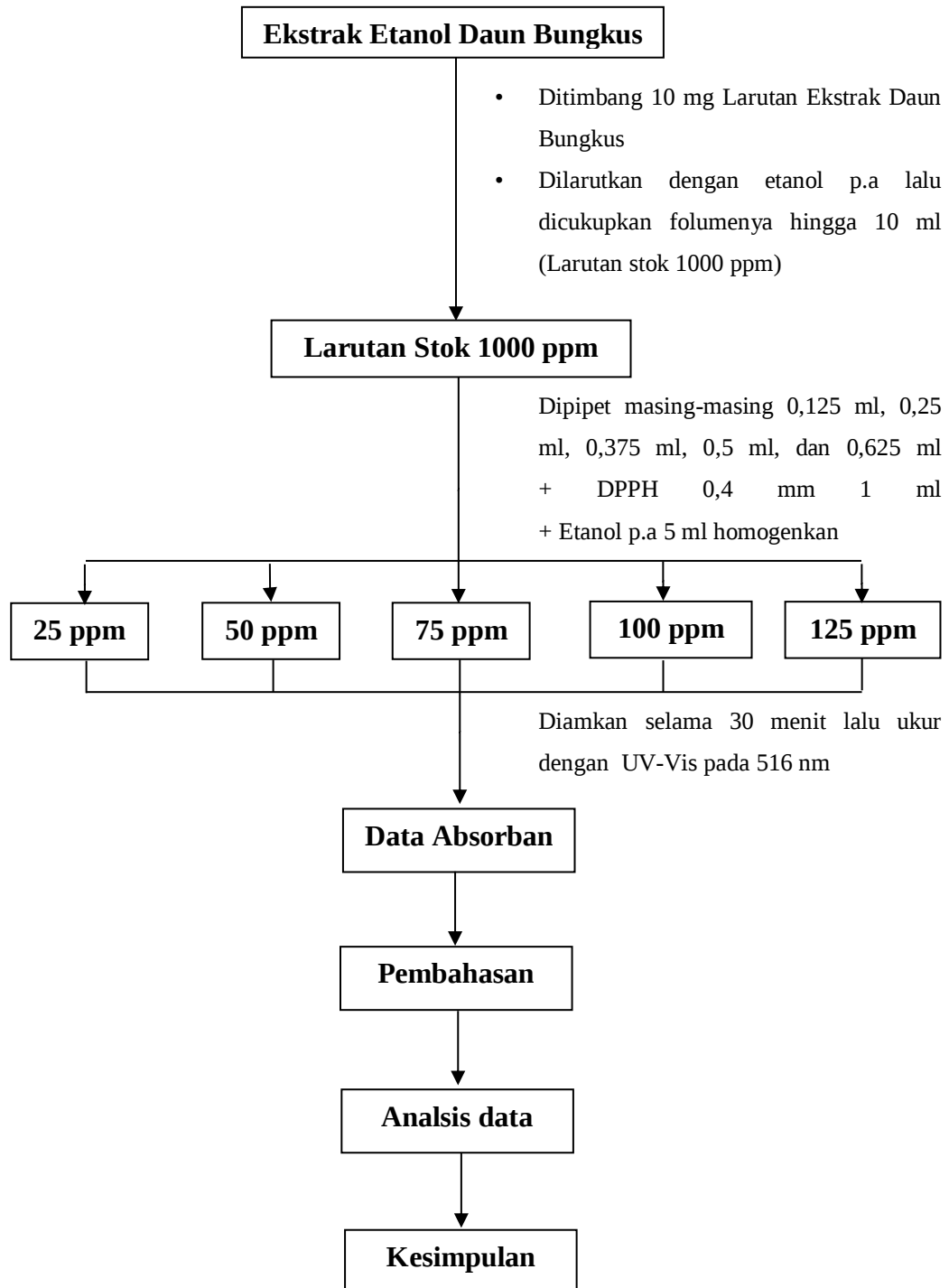
1.1 Skema kerja ekstraksi daun bungkus (*Smilax rotundifolia*) Dengan pelarut etanol 96%.



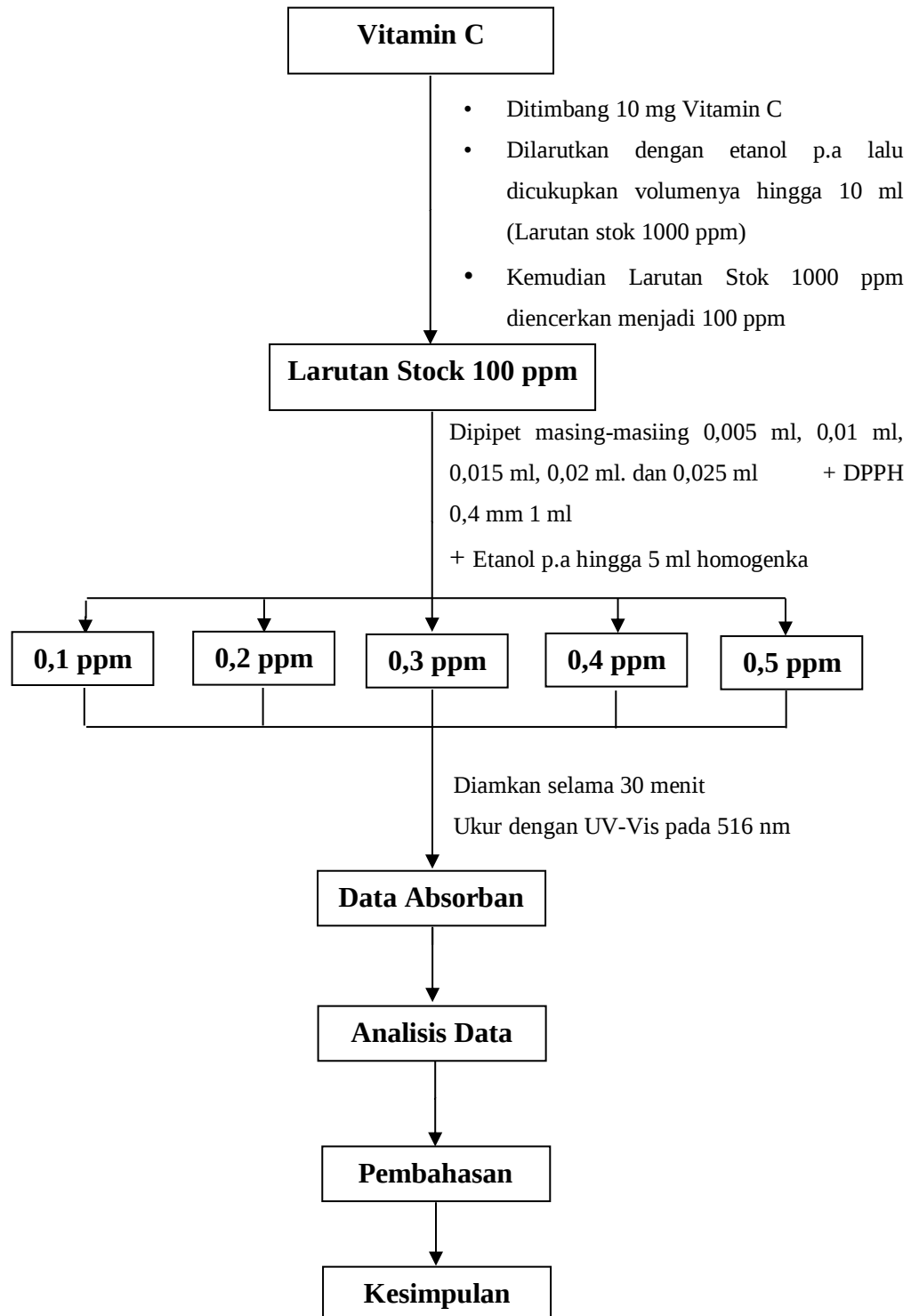
1.2 Skema kerja skrining fitokimia ekstrak etanol daun bungkus (*Smilax rotundifolia*)



1.3 Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bungkus



4.3 Skema Kerja Uji Aktivitas Antioksidan larutan Pembanding (VitaminC)



Lampiran 2. Perhitungan DPPH, konsentrasi ekstrak etanol daun bungkus, pengenceran vitamin c, konsentrasi vitamin c, nilai Rf, nilai % inhibisi dan nilai IC₅₀

A. Perhitungan DPPH 0,4mM

Diketahui :

$$M = 0,4 \text{ mM}$$

$$V = 100 \text{ ml}$$

$$G = ?$$

$$Mr = 394,32$$

Penyelesaian :

$$M = \frac{g}{mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,4 = \frac{g}{394,32} \times \frac{1000}{100}$$

$$g = \frac{39,432 \times 0,4}{1000}$$

$$g = \frac{15,7}{1000} = 0,0157\text{g}$$

B. Perhitungan konsentrasi ekstrak

Diketahui :

$$M_1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$M_2 = 25,50,75,100,125 \text{ ppm}$$

$$V_1 = ?$$

$$V_2 = 5 \text{ ml}$$

1) Konsentrasi 25 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 25$$

$$V_1 = \frac{125}{1000}$$

$$V_1 = 0,125$$

2) Konsentrasi 50 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 50$$

$$V_1 = \frac{250}{1000}$$

$$V_1 = 0,25$$

3) Konsentrasi 75 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 75$$

$$V_1 = \frac{375}{1000}$$

$$V_1 = 0,375$$

4) Konsentrasi 100 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 100$$

$$V_1 = \frac{500}{1000}$$

$$V_1 = 0,5$$

5) Konsentrasi 125 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 125$$

$$V_1 = \frac{625}{1000}$$

$$V_1 = 0,625$$

C. Perhitungan pengenceran Vitamin C

Pengenceran 1000 ppm $\longrightarrow$ 100 ppm

Diketahui :

$$M_1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$M_2 = 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = ?$$

$$V_2 = 10$$

Penyelesaian :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 10 \times 100$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

D. Perhitungan konsentrasi Vitamin C

Diketahui :

$$M_1 = 100 \text{ ppm}$$

$$M_2 = 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = ?$$

$$V_2 = 5 \text{ ml}$$

Penyelesaian :

1) Konsentrasi 0,1 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 = 5 \times 0,1$$

$$V_1 = \frac{0,5}{100}$$

$$V_1 = 0,005 \text{ ml}$$

2) Konsentrasi 0,2 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 = 5 \times 0,2$$

$$V_1 = \frac{1}{100}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ ml}$$

3) Konsentrasi 0,3 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 = 5 \times 0,3$$

$$V_1 = \frac{1,5}{100}$$

$$V_1 = 0,015 \text{ ml}$$

4) Konsentrasi 0,4 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 = 5 \times 0,4$$

$$V_1 = \frac{2}{100}$$

$$V_1 = 0,02 \text{ ml}$$

5) Konsentrasi 0,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 0,5$$

$$V_1 = \frac{2,5}{1000}$$

$$V_1 = 0,025 \text{ ml}$$

E. Perhitungan nilai % inhibisi Ekstrak etanol daun bungkus

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi dan persentase inhibisi ekstrak etanol daun bungkus

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (A) $\lambda = 512 \text{ nm}$	Peredaman (%)
1	25	0,129	14,569
2	50	0,102	32,450
3	75	0,091	39,735
4	100	0,086	43,046
5	125	0,080	47,019
6	BLANKO	0,151	

a. 25 ppm

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\
 &= \frac{0,151-0,129}{0,151} \times 100\% \\
 &= \frac{0,022}{0,151} \times 100\% \\
 &= 14,569
 \end{aligned}$$

b. 50 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\ &= \frac{0,151-0,102}{0,151} \times 100\% \\ &= \frac{0,049}{0,151} \times 100\% \\ &= 32,450\end{aligned}$$

c. 75 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\ &= \frac{0,151-0,091}{0,151} \times 100\% \\ &= \frac{0,06}{0,151} \times 100\% \\ &= 39,735\end{aligned}$$

d. 100 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\ &= \frac{0,151-0,086}{0,151} \times 100\% \\ &= \frac{0,065}{0,151} \times 100\% \\ &= 43,046\end{aligned}$$

e. 125 ppm

$$\begin{aligned}\% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\ &= \frac{0,151-0,080}{0,151} \times 100\% \\ &= \frac{0,071}{0,151} \times 100\% \\ &= 47,019\end{aligned}$$

F. Perhitungan nilai % inhibisi Vitamin C

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi dan persentase inhibisi ekstrak etanol daun bungkus

No	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi (A) λ = 512 nm	Peredaman (%)
1	0,1	0,363	17,873
2	0,2	0,330	25,339
3	0,3	0,326	26,244
4	0,4	0,314	28,959
5	0,5	0,218	50,678
6	BLANKO	0,442	

a. 0,1 ppm

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\
 &= \frac{0,442-0,363}{0,442} \times 100\% \\
 &= \frac{0,079}{0,442} \times 100\% \\
 &= 17,873
 \end{aligned}$$

b. 0,2 ppm

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{AB-AS}{AB} \times 100\% \\
 &= \frac{0,442-0,330}{0,442} \times 100\% \\
 &= \frac{0,112}{0,442} \times 100\% \\
 &= 25,339
 \end{aligned}$$

c. 0,3 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{AB-AS}{AB} \times 100\%$$

$$= \frac{0,442-0,326}{0,442} \times 100\%$$

$$= \frac{0,116}{0,442} \times 100\%$$

$$= 26,244$$

d. 0,4 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{AB-AS}{AB} \times 100\%$$

$$= \frac{0,442-0,314}{0,442} \times 100\%$$

$$= \frac{0,128}{0,442} \times 100\%$$

$$= 28,959$$

e. 0,5 ppm

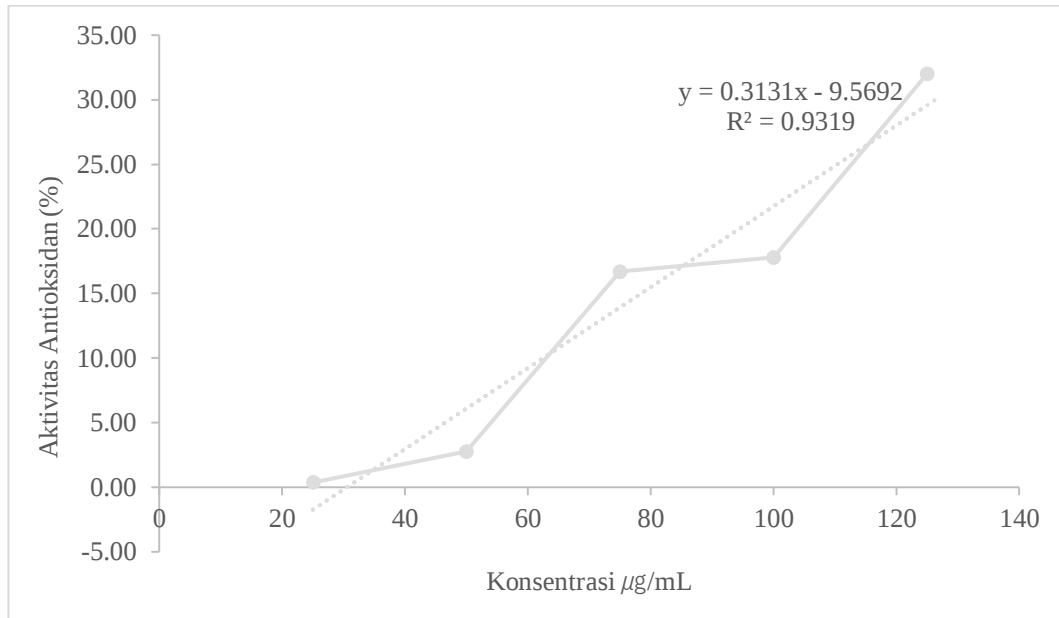
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{AB-AS}{AB} \times 100\%$$

$$= \frac{0,442-0,218}{0,442} \times 100\%$$

$$= \frac{0,224}{0,442} \times 100\%$$

$$= 50,678$$

G. Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Bungkus



Gambar 1. Grafik regresi linear ekstrak

nilai IC₅₀

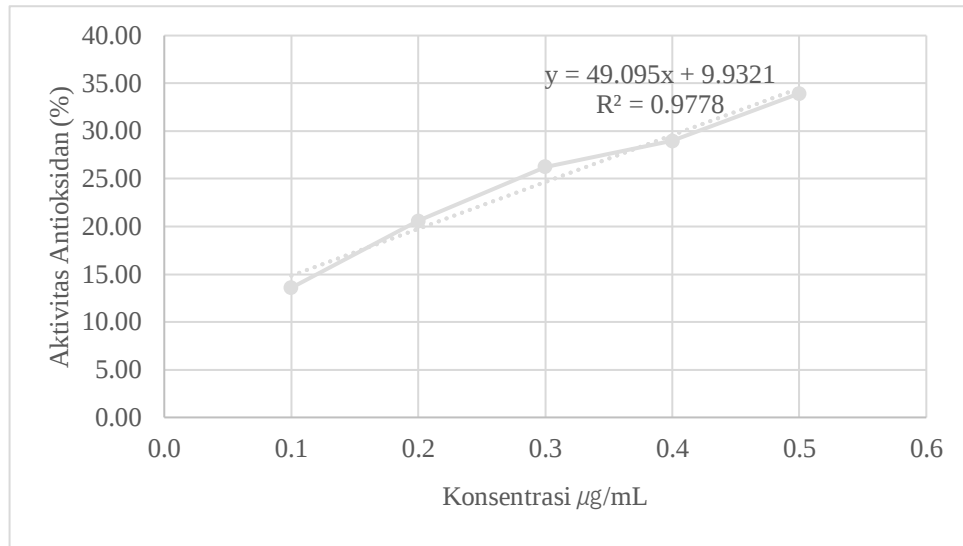
x = IC 50

y = 0,3131x - 9,5692

IC₅₀ (X) = (y + 9,5692/0,3131 = (50 + 9,5692/0,3131) = 190,26 $\mu\text{g/mL}$

Jadi nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 190,26 ppm

Perhitungan Nilai IC₅₀ Vitamin C



Gambar 2. Gravik linear vitamin c

nilai IC₅₀

x = IC 50

$$y = 49,095x + 9,9321$$

$$\text{IC}_{50} (X) = (y - 9,9321/49,095 = (50 - 9,9321/49,095) = 0,82 \mu\text{g/mL}$$

Jadi nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 0,82 ppm

Lampiran 3 Gambar Penelitian



1. Pengambilan daun bungkus



2. Pencucian daun



3. Daun ditimbang 1,5 kg



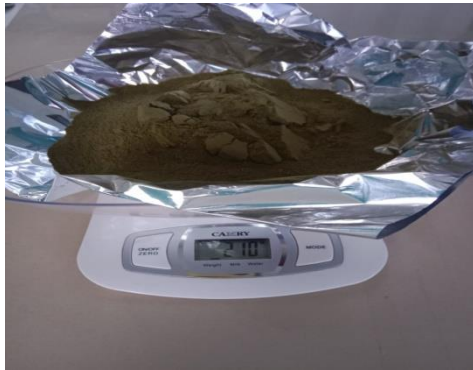
4. Daun dipotong kecil-kecil



5. Daun dikeringkan dengan oven



6. Daun diblender sampe halus



7. Hasil blender ditimbang 210 gram



8. Perendahan dengan etanol 96 %



9. Penyaringan kertas saring



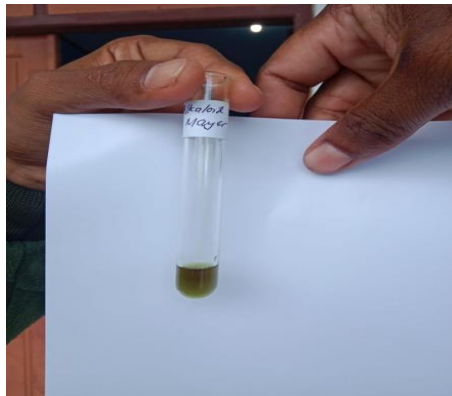
10. Dievaporasi dengan waterbath pada suhu 60°C



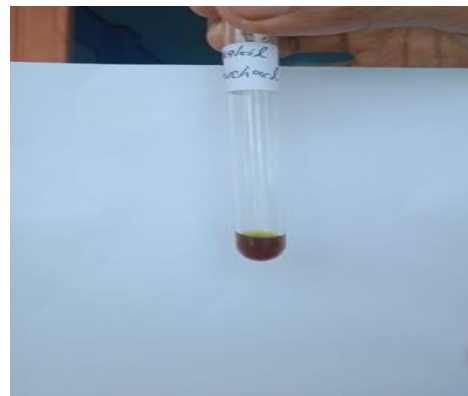
11. cawan kosong 39 – 53 cawan isi ekstrak = 14 gram hasil ekstrak



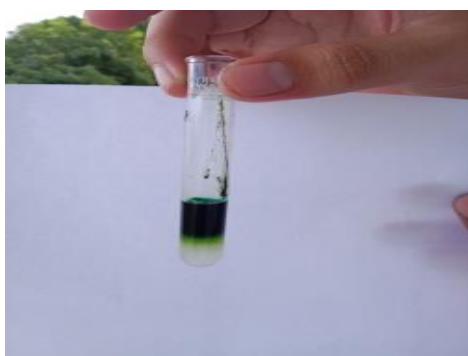
12. Uji alkaloid Dragendrof positif



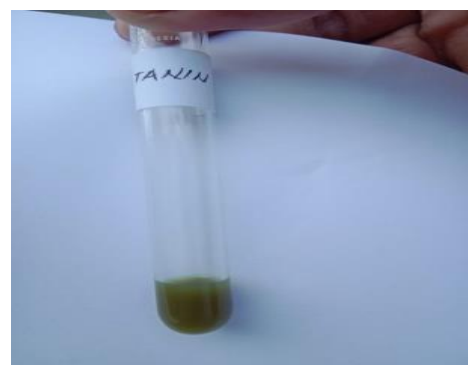
13. Uji Alkaloid Mayer positif



14. Uji Alkaloid Bouchard



15. Uji Steroid Positif



16. Uji Tannin Positif



17. Uji Saponin Positif



18. Timbang DPPH



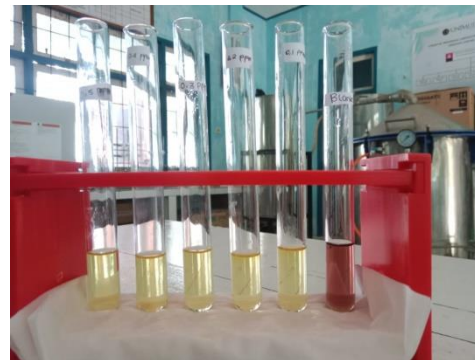
19. Penimbangan Vit C uji



20. Penimbangan ekstrak uji



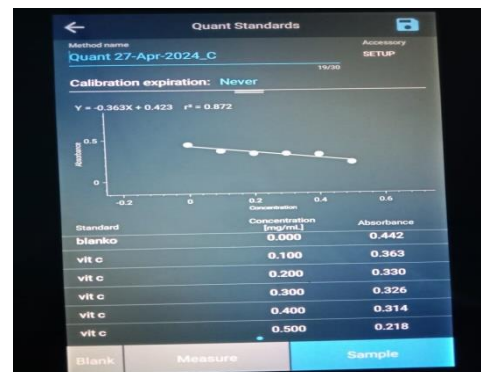
21. Fariasi konsentrasi Sampel Daun bungkus



22. Fariasi konsentrasi larutan Vit C



Hasil uji daun bungkus



Hasil uji vitamin c