

LAPORAN PENELITIAN



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KALAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.)
MENGUNAKAN METODE *FERRIC REDUCING*
ANTIOXIDAN POWER (FRAP)**

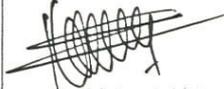
apt. Rabiatul Adawiyah, S. Farm., M.Si
apt. Dewi Sari Mulia, S.Farm., M.Si
SANDRILLA

NIDN 1123018201
NIDN 1123098702
NIM 20.71.022979

**PROGRAM STUDI D-III FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PALANGKARAYA
PALANGKA RAYA
2023**

HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN

Judul Penelitian : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KALAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm. F) Bedd) MENGGUNAKAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*)
Tema Penelitian : Kesehatan / Farmasi
Nama ketua Peneliti : apt. Rabiatul Adawiyah, S.Farm., M. Si
NIDN : 1123018201
Jabatan Fungsional : Lektor 200
Program studi : D III Farmasi
Nomor HP : 081352798226
Alamat Email : abi_ubiet@gmail.com
Nama Anggota 1 : apt. Dewi sari Mulia, S.Farm., M.Si
Program studi : DIII Farmasi
Nama Mahasiswa yang terlibat : I. Sandrilla NIM. 20.71.022979
Biaya Penelitian : Rp. 10.000.000

Paraf Ka.prodi DIII Farmasi  apt. Evi Mulyani, M.Farm NIK. 10.0601.1.024	<ol style="list-style-type: none">1. Penelitian yang diusulkan sesuai dengan rencana induk Riset2. Penelitian yang diusulkan sesuai dengan bidang ilmu PS3. Penelitian ini diusulkan melibatkan Mahasiswa yang melakukan tugas akhir4. Usulan Penelitian telah dibukukan oleh Prodi
---	--

Palangkaraya, 17 Juli 2023

Mengetahui,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,


apt. Nurul Chusna, M.Sc
NIK: 15.0601.014

Peneliti,


apt. Rabiatul Adawiyah, S.Farm., M.Si
NIDN. 1123018201

Menyetujui,
Kepala Prodi Farmasi UM Palangkaraya


Dr. Nurul Hikmah Kartini, S.Si., M.Pd
NIK 12.0203.008

RINGKASAN

Jenis paku-pakuan yang merupakan tumbuhan epifit ternyata masih kurang mendapatkan perhatian dalam bidang riset dibanding tumbuhan lainnya. Salah satu jenis paku-pakuan tersebut adalah *Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd atau yang sering disebut dengan kalakai. Tumbuhan kalakai merupakan tumbuhan paku yang habitatnya di rawa, tumbuhan kalakai memiliki potensi yang besar sebagai obat tradisional khas Kalimantan, dalam penelitian uji skrining ekstrak etanol daun kalakai positif mengandung flavonoid, fenol, tannin, alkaloid dan saponin. Dimana senyawa aktif flavonoid memiliki manfaat untuk tubuh karena aktivitasnya sebagai antibakteri, antiinflamasi, antikolestrol dan antioksidan.

Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) merupakan salah satu tumbuhan obat yang memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan daun kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) dengan pelarut etanol sebagai pelarut polar dan diukur dengan metode FRAP menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang.

Prinsip metode FRAP yaitu reaksi reduksi (Fe^{3+}) berwarna kuning yang berubah menjadi hijau kebiruan senyawa kompleks (Fe^{2+}) akibat elektron yang didonorkan dari senyawa antioksidan. Hasil absorbansi digunakan untuk menentukan nilai FRAP yang dinyatakan dalam mg ekuivalen vitamin C/gr ekstrak karena tiap gram ekstrak mengandung x (nilai) mg ekuivalen yang setara dengan standar vitamin C. Kontrol positif atau senyawa pembanding yang digunakan adalah vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kalakai dibuat dalam 3 ulangan yaitu 0,681, 0,876, 0,782 sehingga nilai rata-rata sampel ekstrak etanol daun kalakai adalah 127,2 mgAAE/g ekstrak dan termasuk dalam kategori antioksidan yang kuat.

Kata Kunci : Antioksidan, Etanol, ekstrak daun kalakai, metode FRAP, Spektrofotometer UV-Vis

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi di masa mendatang, jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan (Dalimartha, 2013).

Kecenderungan gaya hidup *back to nature* sekarang ini membuat pengobatan herbal semakin meningkat pemakaiannya, ditunjang lagi dengan banyaknya kalangan medis yang ikut serta dalam mengembangkannya. Kecenderungan ini di dasari oleh beberapa alasan, diantaranya obat modern yang semakin mahal menyebabkan masyarakat mulai mencari pengobatan yang murah dan mudah di dapatkan, serta tidak kalah manjur. Pemanfaatan tumbuhan obat tradisional untuk pengobatan sendiri (*self care*) cenderung mengalami peningkatan (Amtiran, 2019).

Jenis paku-pakuan yang merupakan tumbuhan epifit ternyata masih kurang mendapatkan perhatian dalam bidang riset dibanding tumbuhan lainnya (Irma dan Herlina. 2013). Salah satu jenis paku-pakuan tersebut adalah *Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd atau yang sering disebut dengan kalakai Tumbuhan kalakai merupakan tumbuhan paku yang habitatnya di rawa, tumbuhan kalakai memiliki potensi yang besar sebagai obat tradisional khas Kalimantan, dalam penelitian uji skrining ekstrak etanol daun kalakai positif mengandung flavonoid, fenol, tannin, alkaloid dan saponin. Dimana senyawa aktif flavonoid memiliki manfaat untuk tubuh karena aktivitasnya sebagai antibakteri, antiinflamasi, antikolestrol dan antioksidan (Adawiyah *et al.*, 2018)

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap antioksidan sintetik, menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih (Irmawati, 2014).

Beragam metode pengukuran telah dikembangkan untuk mengukur karakteristik total antioksidan. Metode pengukuran aktivitas antioksidan tersebut akan mendeteksi karakteristik yang berbeda dari antioksidan dalam sampel, hal ini menjelaskan mengapa metode pengukuran aktivitas yang berbeda akan mengacu pada pengamatan mekanisme kerja antioksidan yang berbeda pula (Hasannbaglou, *et al.*, 2012). Beberapa metode yang dilakukan yaitu DPPH, CUPRAC, FRAP.

Benzie & Strain (1996) mengemukakan bahwa metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen, *et al.*, 2002).

Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yaitu UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KALAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) MENGGUNAKAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan daun kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd dengan pelarut etanol sebagai pelarut polar dan diukur dengan metode FRAP menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.

BAB II TINJAUAN PUSAKA

2.1 Tumbuhan Obat Tradisional

Tumbuhan Obat Tradisional adalah tumbuhan yang salah satu atau seluruh bagian pada tumbuhan tersebut mengandung zat aktif yang berkhasiat bagi kesehatan yang dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh penyakit atau sebagai ramuan bahan alam yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Bagian tumbuhan yang dimaksud adalah daun, buah, bunga, akar, rimpang, batang (kulit) dan getah (*resin*) (Wijayakusuma, 2008).

Obat tradisional sendiri masih mempunyai beragam variasi dari senyawa, sehingga obat tradisional mungkin akan menimbulkan interaksi antara senyawa yang mempunyai pengaruh lebih kuat. Namun dapat terjadi sebaliknya yaitu interaksi tersebut akan berubah menjadi *toksin* (Sada & Rosye, 2010).

Dalam menggunakan tumbuhan obat sebagai salah satu bahan dalam pengobatan, maka pengetahuan tumbuhan harus dipahami. Hal ini menjadi penting karena banyak tumbuhan obat yang mirip satu dengan yang lainnya. Berikut merupakan uraian umum mengenai jenis tumbuhan, bagian tumbuhan obat yang akan digunakan dan cara pengolahan yang biasa dipakai:

1. Jenis tumbuhan

Jenis tumbuhan memiliki karakteristik yang berbeda, karakteristik tersebut dapat dilihat dari tinggi tumbuhan. Tumbuhan penutup tanah yang hanya mencapai tinggi beberapa sentimeter saja (*grasses*), tumbuhan herbal yaitu tumbuhan yang tidak berkayu (*herbs*, umumnya hanya beberapa puluh sentimeter saja), tumbuhan semak (*bushes*, tumbuhan berkayu, tetapi tidak memiliki batang utama dengan tinggi 1-2 m), perdu (*shurbs*, tumbuhan berkayu dan memiliki batang utama dengan tinggi bias mencapai 5 m, atau disebut sebagai pohon kecil); serta pohon yang memiliki jenis dan ukuran yang beragam (umumnya pohon pohon memiliki kanopo daun yang berfungsi sebagai payung, untuk meneduhi area padaradius tertentu) (Arifin & Suwita, 2006).

2. Bagian Tumbuhan yang digunakan

Tumbuhan memiliki beberapa bagian tumbuhan antara lain :

a. Herba

Herba merupakan seluruh bagian tumbuhan obat yang dimulai dari akar, batang, daun, bunga, dan buah (Dalimartha & Adrian, 2013).

b. Batang

Batang merupakan bagian dari tubuh tumbuhan. Ada tumbuhan yang jelas terlihat batangnya dan ada yang tampak tidak berbatang sehingga seakanakan keluar dari akarnya. Tumbuhan jenis ini akan tampak batangnya setelah berbunga (Dalimartha, 2008).

c. Rimpang

Rimpang (*rhizoma*) beserta dengan akar dan menancapkan tubuh kedalam substrat. *Rhizoma* seringkali terbenam didalam substrat yang meluas secara ekstensif dan memiliki peran pada reproduksi vegetative (Frsiandini, 2012).

d. Akar dan umbi

Merupakan bagian tumbuhan yang biasanya terdapat didalam tanah pertumbuhan akar kearah pusat bumi (*geotrop*) atau menuju ke air (*hidrotrop*). Akar tidak berbuku-buku atau beruas-ruas. Umbi merupakan perubahan bentuk dari batang menjadi umbi yang berlapis-lapis (Dalimartha, 2008).

e. Daun

Pada umumnya daun berbentuk pipih *bilateral*, berwarna hijau, dan merupakan tempat utama terjadinya fotosintesis. Organ dan memiliki bagian utama seperti pangkal daun, pelepah atau upih daun, tangkai daun dan helai daun (Mulyani, 2010).

f. Bunga

Bunga merupakan alat reproduksi seksual pada tumbuhan. Bunga merupakan bagian tumbuhan yang menunjukkan variasi besar dalam struktur, susunan dan ukurannya. Bagian-bagian penting pada bunga terdiri dari bagian steril dan bagian fertile (Ratnasari, 2007).

g. Buah, kulit buah dan biji

Buah dikumpulkan setelah masak dan kulit buah diambil dari kulit buah yang sudah masak (Dalimartha & Adrian, 2013).

h. Kulit kayu dan kayu

Kulit kayu (*cortex*) adalah kulit bagian luar dari tumbuhan yang sering digunakan sebagai bahan ramuan meliputi, kulit batang, cabang atau kulit akar sampai ke lapisan epidermis sedangkan kayu (*lignum*) merupakan pemanfaatan bagian dari batang atau cabang tumbuhan obat berupa kayu tanpa kulit (Dalimartha, 2008).

3. Cara pengolahan

Dalam buku Wijayakusuma (2008), dijelaskan bahwa dalam mengelola tumbuhan obat dapat digunakan beberapa cara, yaitu :

- a. Segera digunakan yang telah dibersihkan (tanpa pengolahan)
- b. Perebusan, jika tahannya besar atau tebal, dipotong-potong tipis agar pada saat perebusan zat-zat yang terkandung didalamnya mudah keluar dan meresap dalam air rebusan.
- c. Herbal yang akan disimpan, dikeringkan terlebih dahulu setelah dicuci agar tahan lama dan mencegah pembusukan oleh bakteri dan jamur. Pengeringan dapat dilakukan langsung dibawah sinar matahari atau memakai pelindung. Dapat juga diangin-anginkan tergantung dari ketebalan atau kandungan airnya.
- d. Seduh langsung, bahan yang telah dijadikan bubuk (serbuk) diseduh dengan air mendidih.

4. Lama pemberian

Lama pemberian obat adalah lamanya obat digunakan atau durasi obat yang digunakan, Biasanya lama pemberian obat tergantung pada penyakit yang diderita oleh pasien.

2.2 Tumbuhan Kalakai

2.2.1 Morfologi dan Toksonomi Kalakai

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Pteridophyta (paku-pakuan)
Kelas	: Pteridopsida
Ordo	: Polypodiales
Famili	: Polypodiaceae
Genus	: <i>Stenochlaena</i>
Spesies	: <i>Stenochlaena palustris</i> (Burm.f.) Bedd
Sinonim	: <i>Polypodium palustre</i> Burm.f. = <i>Onoclea scandens</i> Sw. = <i>Lomaria scandens</i> (Sw.) Willd.



Gambar I. Kalakai *Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd

Kalakai merupakan paku tanah, yang memiliki Panjang 5-10 cm dengan akar rimpang yang memanjat tinggi, kuat, pipih, persegi, telanjang atau bersisik kerap kali dengan tubas yang menyerap, tumbuhnya secara perlahan atau epifit dengan akar utama berada di tanah. Daun kalakai menyirip tunggal, dan dimorph. Tangkai daun tumbuhan kalakai berukuran 10-20 cm, yang cukup kuat. Daunnya steril, 30-200 x 20-50 cm, kuat, mengkilat, gundul, yang muda kerap kali berwarna keungu-unguan,

anak daunnya banyak, bertangkai pendek, berbentuk lanset, dengan lebar 1,5–4 cm, meruncing dengan kaki lancip membulat, kedua sisi tidak sama, diatas kaki bergerigi tajam dan halus, daun berjarak lebar, anak daun fertile lebarnya 2-5 mm (Sutomo & Arnida, 2010).

2.2.2 Pemanfaatan Tumbuhan Kalakai

Berdasarkan studi empiris kalakai dipergunakan sehari-hari oleh masyarakat untuk mencegah kekurangan darah (pencegah anemia) dengan mengkonsumsinya sebagai sayuran. Sehingga perlu diteliti kandungan zat gizinya. Diharapkan hal itu dapat mengantarnya menjadi salah satu pangan fungsional. Penelitian meliputi analisa proksimat, uji mineral (Fe dan Ca), uji vitamin (vitamin C dan vitamin A) dan uji fitokimia (flavonoid, alkaloid dan steroid). Hasil pengukuran sampel daun dan batang yaitu untuk kadar air 8,56% dan 7,28%, kadar abu 10,37% dan 9,19%, kadar serat kasar 1,93% dan 3,19%, kadar protei 11,48% dan 1,89%, kadar lemak 2,63% dan 1,37%. Hasil analisis mineral Ca lebih tinggi di daun dibandingkan batang yaitu 182,07 mg per 100 g, demikian pula dengan Fe tertinggi 291,32 mg per 100 g. Hasil analisis vitamin C tertinggi terdapat di batang 264 mg per 10 g dan vitamin A tertinggi terdapat di daun 26976,29 ppm. Hasil analisa fitokimia flavonoid, alkaloid dan steroid tertinggi terdapat pada batang, sebesar 3,010%, 3,817% dan 2,583% (Maharani *et al*, 2006).

Tumbuhan kalakai merupakan tumbuhan paku yang habitatnya di rawa, tumbuhan kalakai memiliki potensi yang besar sebagai obat tradisional khas Kalimantan, dalam penelitian uji skrining ekstrak etanol daun kalakai positif mengandung flavonoid, fenol, tannin, alkaloid dan saponin. Flavonoid diyakini dapat menurunkan aterosklerosis dengan menghambat oksidasi LDL (Low Density Lipoprotein) dengan cara menghambat pembentukan radikal bebas (Silalahi, 2006 dalam Syamsul Eka *et al.*, 2019). Senyawa aktif flavonoid memiliki manfaat untuk tubuh karena aktivitasnya sebagai anti kolesterol. Tujuan penelitian untuk menentukan efek anti hiperlipidemia dan untuk menentukan pada dosis

berapa ekstrak daun kalakai dapat menurunkan kadar lipid pada tikus putih Wistar secara in vivo. Metode yang digunakan adalah melakukan metode uji aktivitas antihiperlipidemia dengan cara memberi perlakuan pada hewan coba dengan kelompok uji kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, Pengujian dosis 100 mg/Kg BB, pengujian dosis 200 mg/Kg BB dan pengujian dosis 400 mg/Kg BB dengan menggunakan spektrofotometer UVVIS. Hasil penelitian yang diperoleh untuk kontrol positif yang dipatkan pada kadar kolesterol total sebesar $36,4 \pm 1,85$ dan untuk trigliserida sebesar $33 \pm 3,03$ pada untuk kolesterol total dosis 100 mg/KgBB sebesar $69,4 \pm 3,00$; dosis 200 mg/KgBB sebesar $56,6 \pm 2,24$; dosis 400 mg/KgBB sebesar $40 \pm 1,89$ sedangkan untuk kadar trigliserida dosis 100 mg/Kg BB sebesar $63,4 \pm 2,57$; dosis 200 mg/KgBB sebesar $51,8 \pm 1,32$; dan dosis 400 mg/KgBB sebesar $38 \pm 2,00$. J (Adawiyah, 2022)

2.3 Ekstrak

Menurut Depertemen Kesehatan Republik Indonesia (2014) Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

2.3.1 Cara Pembuatan Ekstrak

Proses penyarian zat aktif yang terdapat pada tumbuhan dapat dilakukan secara :

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar.

Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Sinaga, 2018).

Menurut Farmakope Herbal Edisi I tahun 2013, pembuatan maserasi dilakukan sebagai berikut: Masukkan satu bagian serbuk simplisia ke dalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diaduk selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian simplisia yang dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana bahan yang sudah halus, zat yang larutannya diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan (Sinaga, 2018).

Menurut Farmakope Indonesia edisi V 2014, pembuatan perkolasi kecuali dinyatakan lain, dilakukan sebagai berikut: campur dengan hati-hati serbuk bahan obat atau campuran bahan obat dengan pelarut atau campuran pelarut tertentu secukupnya, hingga rata dan cukup basah, biarkan selama 15 menit, pindahkan ke dalam perkolator yang sesuai, dan mampatkan. Tuangkan secukupnya pelarut atau campuran pelarut tertentu sampai terendam seluruhnya, tutup bagian atas perkolator dan jika cairan sudah hampir menetes dari perkolator, tutup lubang bawah. Perkolasi selama 24 jam atau sesuai dengan waktu yang tertera pada monografi. Jika penetapan kadar tidak dinyatakan lain lakukan perkolasi secara perlahan, atau pada

kecepatan yang telah ditentukan dan secara bertahap tambahkan pelarut atau campurkan pelarut secukupnya hingga diperoleh 1000 mL tingtur, (untuk menetapkan kecepatan aliran, lakukan seperti yang tertera pada Ekstrak dan Ekstrak cair). Jika penetapan kadarnya dinyatakan, kumpulkan 950 mL perkolat, dan campur, tetapkan kadar terhadap sebagian perkolat seperti yang dinyatakan. Untuk memperoleh tingtur yang memenuhi syarat baku, perlu pengenceran sisa tingtur dengan sejumlah pelarut atau campuran pelarut tertentu yang telah dihitung dari penetapan kadar.

3. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan proses ekstraksi panas yaitu ekstraksi dengan cara pemanasan secara continue atau terus menerus sehingga cairan penyari yang berada pada alat soxhlet tidak berwarna lagi. Pada metode soxhletasi waktu yang digunakan dalam mengekstraksi tidak dapat dipastikan/ditentukan (Sinaga, 2018).

4. Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3 - 5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna (Sinaga, 2018).

5. Destilasi

Destilasi adalah suatu proses penyarian simplisia atau proses pemisahan suatu senyawa dari simplisia yang dilakukan dengan penyulingan atau dengan pemanasan, dan uap yang terbentuk diembunkan lalu terbentuk destilat. Proses ekstraksi ini dilakukan berdasarkan perbedaan titik didih kandungan zat yang terdapat dalam simplisia yang akan diekstrak (Sinaga, 2018).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas (Afrianti, 2010).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap antioksidan sintetik, menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih (Irmawati, 2014).

2.4.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan aktivitas radikal bebas, secara alami ada dalam tubuh, namun jumlahnya sedikit dan akan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya usia sehingga memerlukan asupan 17 tambahan dari makanan yang dikonsumsi (Ariani, 2017). Jenis antioksidan di alam ada 3 yaitu :

a. Antioksidan Enzim

Antioksidan enzim merupakan jenis antioksidan yang berasal dari protein dan mineral makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Enzim ini disintesis di dalam tubuh. Agar antioksidan enzim dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan optimal membutuhkan ko-faktor seperti besi, seng, magnesium, selenium, dan tembaga. Yang termasuk

dalam antioksidan enzim yaitu Enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT) (Irmawati, 2014).

b. Antioksidan Vitamin

Antioksidan vitamin tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga membutuhkan asupan dari makanan dan suplemen. Yang termasuk di dalam antioksidan vitamin yaitu vitamin A, vitamin C, vitamin E, asam folat, dan betakaroten (Ariani, 2017).

c. Antioksidan Fitokimia

Antioksidan fitokimia merupakan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan dan digunakan untuk menangkal radikal bebas. Antioksidan fitokimia terdiri dari *karotenoid, flavonoid, polifenol, dan sulfide allyl*. Antioksidan fitokimia banyak ditemukan pada makanan alami seperti buah-buahan, sayuran, dan biji-bijian. Warna buah-buahan dan sayuran merupakan pigmen yang bermanfaat sebagai zat antioksidan (Irmawati, 2014).

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Dalam gerakannya yang tidak beraturan, karena sangat reaktif, radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel. Radikal bebas dapat mengoksidasi sel DNA, asam nukleat, asam lemak tak jenuh, karbohidrat, lemak, dan protein sehingga akan menimbulkan penyakit degeneratif (Irmawati, 2014).

Dalam tubuh manusia, tanpa disadari terbentuk radikal bebas secara terus menerus, baik bersumber secara endogen maupun eksogen. Secara endogen meliputi proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi. Radikal bebas eksogen terjadi karena adanya polusi lingkungan, ultraviolet, asap rokok dan lain-lain. Dengan meningkatnya usia seseorang, pembentukan radikal bebas juga makin meningkat. Secara endogenus, hal ini berkaitan dengan laju

metabolisme seiring bertambahnya usia. Bertambahnya glikolisis juga akan menyebabkan peningkatan oksidasi glukosa dalam siklus asam sitrat sehingga radikal bebas akan terbentuk lebih banyak. Secara eksogenus, kemungkinan tubuh terpapar dengan polutan juga semakin tinggi, seiring dengan meningkatnya umur seseorang. Kedua faktor tersebut secara sinergis meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh (Winarsi, 2011).

Sebenarnya radikal bebas berguna bagi tubuh apabila tidak berlebihan karena radikal bebas dibutuhkan untuk memerangi mikroorganisme penyebab infeksi. Tetapi apabila jumlah radikal bebas terlalu berlebihan akan mengakibatkan penyakit seperti kanker, serangan jantung dan stroke. Hal ini terjadi karena radikal bebas tersebut merusak sel sehingga kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungan berkurang dan sel akan mati (Irmawati, 2014).

2.6 Kontrol Positif

Kontrol positif adalah kelompok perlakuan yang dapat menghasilkan efek atau memberikan efek perubahan pada variabel tergantung. Tujuan digunakannya kontrol positif adalah untuk memastikan eksperimen yang dilakukan sudah tepat dan menghasilkan efek positif pada variabel tergantung. Senyawa pembanding (kontrol positif) yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan vitamin C. Vitamin C (asam askorbat) digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan karena bersifat aman dan tidak menimbulkan toksisitas. (Munte *et al.*, 2015)

Vitamin C yang digunakan sebagai senyawa pembanding adalah antioksidan nonenzimatik yang berfungsi menangkap senyawa radikal bebas untuk mencegah reaksi oksidasi yang dirantai sehingga tidak akan bereaksi dengan komponen lain. Vitamin C juga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan murni pada ekstrak bahan alam. Vitamin C memiliki gugus hidroksil bebas yang berperan menangkap radikal bebas dan memiliki gugus polihidroksi yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan sehingga disebut juga sebagai antioksidan sekunder yang mampu menangkap radikal bebas ekstraseluler (Kim, 2005).

2.7 Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun kalakai adalah etanol. Etanol biasa digunakan untuk mengekstrak senyawa yang bersifat polar. Etanol cenderung aman tidak beracun dan berbahaya. Selain itu juga etanol mempunyai kepolaran yang tinggi (Munawaroh & Handayani., 2010).

Dijelaskan bahwa ekstrak yang bersifat polar memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Tumbuhan yang diekstrak dengan etanol akan menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi dan terbaik (Kuntorini *et al.*,2013)

2.8 Metode FRAP

Salah satu Metode yang digunakan pada uji aktivitas antioksidan ini yaitu metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode ini biasa digunakan untuk menguji senyawa antioksidan dalam tumbuhan. Prinsip dari metode FRAP yaitu dengan adanya reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa Fe^{3+} -TPTZ. Senyawa Fe^{3+} -TPTZ akan mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel.

Penentuan kandungan antioksidan dengan metode FRAP dilakukan secara spektrofotometri yang berdasarkan pada reduksi analog feroin, kompleks Fe^{3+} dari $Fe(TPTZ)^{3+}$ (tripiridiltriazin) menjadi kompleks Fe^{2+} , $Fe(TPTZ)^{2+}$ oleh antioksidan berwarna biru dalam suasana asam (Yefrida *et al.*,2015). Metode FRAP sering dipakai untuk pengujian aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel (Julizan *et al.*,2019).

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang tertentu. Kemudian perubahan akan dilihat dari terbentuknya senyawa kompleks warna biru pada larutan. Absorbansi senyawa tersebut akan diukur

dengan alat spektrofotometri UV-Vis tersebut. Semakin tinggi absorbansi yang terukur maka semakin tinggi kemampuan reduksinya (Jatmika *et al.*, 2015).

Nilai aktivitas antioksidan nilai FRAP dinyatakan dalam bentuk aquivalen yaitu hasil perhitungan sampel setara dengan sejumlah vitamin C dengan tanpa dijelaskan adanya kekuatan antioksidan seperti (sangat kuat, kuat dan sedang). (Maryam *et al.*, 2015). Sampel atau bahan yang memiliki antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai kapasitas antioksidan lebih dari 500 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$, kategori kuat apabila memiliki nilai kapasitas antioksidan antara 100-500 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$, dan sedang nilai kapasitas antioksidan antara 10-100 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$ (Fithriani *et al.*, 2015).

2.9 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Cahaya yang dimaksud dapat berupa cahaya visibel, UV dan inframerah, sedangkan materi dapat berupa atom dan molekul namun yang lebih berperan adalah elektron valensi (Hasibuan, 2015).

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Teknik ini biasanya meliputi dua metode yaitu metode absorbansi tinggi dan metode absorbansi rendah. Yang pertama digunakan untuk analisis larutan yang sangat pekat, sedangkan absorbansi rendah digunakan untuk larutan yang sangat encer. Pada kedua teknik tersebut, konsentrasi sekali tidak dipengaruhi oleh perubahan luar (Hasibuan, 2015). Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm (Gandjar & Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer menyatakan, dimana grafik konsentrasi dengan absorbansi akan membentuk suatu garis lurus. Kedudukan dari garis lurus tersebut

lebih tepat jika ditentukan dengan analisis regresi. Hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dapat dilukiskan sebagai :

$$y = a + bx$$

keterangan sebagai berikut.

y = menyatakan absorbansi

x = konsentrasi

b = koefisien regresi (juga menyatakan slope = kemiringan)

a = tetapan regresi dan juga disebut dengan intersep (Gandjar dan Rohman, 2007).

Nilai kemiringan atau slope pada suatu kurva baku dapat digunakan untuk melihat sensitifitas suatu metode analisis. Harga koefisien korelasi (r) dapat mempunyai nilai antara $-1 \leq r \leq 1$, nilai $r = -1$ menggambarkan korelasi negatif sempurna yakni semua titik percobaan terletak pada satu garis lurus yang kemiringannya (slope-nya) negatif, demikian juga jika $r = +1$ menggambarkan korelasi positif sempurna, yakni semua titik percobaan terletak pada satu garis lurus yang kemiringannya positif. Sedangkan nilai $r = 0$ menyatakan tidak ada korelasi sama sekali antara x dan y (Gandjar & Rohman, 2007).

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis Spektrofotometri Uv-Vis (Gandjar & Rohman, 2007) :

1) Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar Uv-Vis

Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

2) Waktu Operasional

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3) Pemilihan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih

panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

Tahapan-tahapan dalam penggunaan spektrofotometer adalah

1. Pemilihan pelarut

Pelarut yang digunakan tidak mengandung sistem terkonjugasi pada struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan mempunyai kemurnian yang tinggi (Gandjar & Rohman, 2007).

2. Pemilihan panjang gelombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar & Rohman, 2007).

3. Waktu operasional (*operating time*)

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan (Rohman & Gandjar, 2007).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara ekperimental karena menggunakan intervensi antara kontrol positif dan negatif serta variabel bebas yang mempengaruhi variabel lainnya dengan menggunakan metode FRAP untuk melihat aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai FRAP mg equivalen vitamin C/gr ekstrak.

3.2 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.).
2. Variabel tergantung dari penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan yang nilai FRAP yang dinyatakan mg equivalen vitamin C/gr ekstrak.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmokognosi, Laboratorium Ilmu Resep, dan Laboratorium Intstrumen Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangka Raya. Waktu penelitian dimulai dari bulan April - Juli 2023

3.4 Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah deksripsi dari hasil pengukuran nilai absorbansi ekstrak etanol daun kalakai dan hasil pengukuran nilai absorbansi senyawa pembanding vitamin C dengan menggunakan metode FRAP pada spektrofotometer UV-Vis.

3.5 Instrumen Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah batang

pengaduk, blender, corong, labu erlenmeyer, gelas arloji, gelas kimia, labu ukur, oven, penjepit tabung, pH meter, pipet tetes, pipet ukur, pipet volum, pisau, sentrifuge, spektrofotometer UV-Visible, tabung reaksi, tabung sentrifuge, dan timbangan analitik.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang di gunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kalakai, etanol 70%, aquadest, NaOH, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), vitamin C, kalium ferrisianida dan asam trikloroasetat (TCA).

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Pengumpulan Sampel

Bahan yang di gunakan pada penelitian ini adalah daun kalakai yang berwarna hijau kemerahan diambil dari jl. Mahir Mahar kota Palangkaraya. Pengambilan sampel daun Kalakai dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering diblender, lalu siap untuk diekstraksi dengan metode maserasi.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Kalakai

Hasil dari daun kalakai yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1000 g kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi yang tertutup dan terlindung dari cahaya, lalu ditambahkan dengan etanol dan direndam selama 24 jam dan sesekali diaduk. Setelah 24 jam lalu disaring dan ampas hasil ekstraksi diremaserasi lagi lalu diperoleh filtrat hasil penyaringan oleh kertas saring. Keseluruhan filtrat yang telah diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental daun kalakai. Selanjutnya dilakukan bobot tetap dengan dilakukan penimbangan setelah dikeringkan menggunakan oven. Penimbangan dinyatakan sudah mencapai bobot tetap apabila telah dilakukan dua kali penimbangan secara berturut-turut setelah dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 1 jam tidak lebih dari 0,25% atau perbedaannya tidak melebihi 0,5 mg tiap

zat yang digunakan menggunakan penimbangan analitik (Kementerian Kesehatan RI, 2020)

3.6.3 Penyiapan Pada Sampel Ekstrak Etanol

Ditimbang ekstrak etanol sampel masing-masing sebanyak 5 mg dengan 3 replikasi. Kemudian masing-masing ditambahkan dengan etanol sebanyak 5 mL dan dihomogenkan.

3.6.4 Penyiapan Larutan Baku Kurva Vitamin C

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg asam askorbat yang dilarutkan dengan etanol 70% hingga batas labu ukur 10 mL. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; dan 0,6 mL dan ditempatkan dalam labu ukur 5 mL yang berbeda dan diencerkan dengan etanol 70% hingga 5 mL dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yakni 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan 120 ppm (Aditama, 2020).

3.7 Pembuatan Larutan

a. Pembuatan larutan dapar fosfat 0,2 M pH 6,6

Ditimbang sebanyak 2 gram NaOH dan 6,8 gram KH_2PO_4 , kemudian keduanya masing-masing dilarutkan dengan aquades 250 mL dalam masing-masing labu takar. Kemudian dipipet 16,4 mL larutan NaOH dan 50 mL larutan KH_2PO_4 lalu dimasukkan ke dalam labu takar dan dicampur hingga homogen kedua larutan tersebut. Selanjutnya diukur hingga pH 6,6 dan ditambahkan dengan aquades bebas CO_2 hingga batas 200 mL.

b. Pembuatan larutan kalium ferrisianida 1 %

Ditimbang sebanyak 1 gram Kalium ferrisianida 1 %, kemudian dilarutkan dengan aquades dan diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

c. Pembuatan larutan FeCl_3 0,1%

Ditimbang sebanyak 0,1 gram FeCl_3 , kemudian dilarutkan dengan aquades dan diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

d. Pembuatan larutan asam trikloroasetat (TCA) 10 %

Ditimbang sebanyak 10 gram TCA, kemudian dilarutkan dengan aquades dan diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

3.8 Aktivitas Antioksidan Metode FRAP Dengan Pelarut Etanol

Ditimbang sebanyak 5 mg ekstrak lalu dilarutkan dengan 5 mL etanol, kemudian diambil sebanyak 1 mL dengan pipet dan ditambahkan 1 mL larutan dapar fosfat 0,2 M dengan pH 6,6 dan 1 mL larutan $K_3Fe(CN)_6$ g 1 %. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50° C. Selesai diinkubasi ditambahkan 1 mL larutan TCA lalu disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm. Setelah disentrifugasi, pada lapisan bagian atas diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1%, pemberian $FeCl_3$ untuk membentuk kompleks berwarna hijau sampai biru (Maryam *et al.*,2016).

Kemudian larutan tersebut didiamkan selama 10 menit dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 720 nm (Maryam *et al.*, 2016). Sebagai blangko digunakan campuran larutan etanol. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak.

3.9 Analisis Data

Pada analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan mengukur absorbansi (data absorbansi) panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-Vis, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP sehingga didapatkan nilai absorbansi

Kontrol positif yang digunakan yaitu vitamin C dan kontrol negatifnya reagen FRAP dan bahan uji berupa ekstrak etanol daun kalakai. Setelah mendapatkan nilai absorbansi maksimal, lalu dihitung dengan rumus persamaan regresi kurva standar vitamin C melalui suatu persamaan linear $y = bx + a$ yang diperoleh dengan menggunakan microsoft excel (Andi *et al.*,2019).

Penentuan aktivitas antioksidan dengan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{konsentrasi sampel} \times \text{volume sampel})}{\text{bobot sampel}} \times \text{fp}$$

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kalakai dengan menggunakan metode FRAP. Pada penelitian yang dilakukan oleh Adawiyah (2022) menyebutkan bahwa pada uji skrining ekstrak etanol daun kalakai positif mengandung flavonoid, fenol, tannin, alkaloid dan saponin. Senyawa aktif flavonoid memiliki manfaat untuk tubuh karena aktivitasnya sebagai antioksidan, maka dari itu saya melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol daun kalakai dengan menggunakan metode FRAP apakah ekstrak etanol daun kalakai tersebut memiliki manfaat sebagai antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan antioksidan dalam sampel melalui uji FRAP dan menentukan nilai aktivitas antioksidan yang ada dalam sampel ekstrak etanol daun kalakai. Beberapa metode telah dikembangkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu sampel. Pada penelitian ini menggunakan metode FRAP. Alasan memilih metode FRAP karena prosedurnya sederhana, metodenya murah, cepat dan reagen yang digunakan juga cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total nilai antioksidan. Selain itu, reaksinya direproduksi dan linear yang berkaitan pada konsentrasi molar dari antioksidan. Namun, ada beberapa kerugian yang ditemukan dalam metode ini tidak bereaksi cepat dengan beberapa glutathion. Antioksidan adalah senyawa yang menyumbangkan elektron tunggal atau atom hydrogen untuk reduksi (Rabetta & Faranisa, 2013).

Pada penelitian ini menggunakan sampel ekstrak kental daun kalakai, sebelum dilakukan ekstraksi daun kalakai terlebih dahulu diolah menjadi simplisia. Hal pertama yang harus dilakukan adalah mengumpulkan simplisia, kemudian dicuci hingga bersih agar tidak ada kotoran yang tertinggal. Setelah itu lakukan perajangan pada simplisia agar mempercepat proses pengeringan. Daun kalakai dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang teduh hal ini dikarenakan proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu tumbuhan herbal terutama senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan. Kandungan fenolik dan flavonoid total dalam suatu simplisia

yang mempunyai aktivitas antioksidan kestabilannya dapat dipengaruhi oleh proses pengeringan. Setelah kering dilakukan sortasi agar tidak ada kotoran yang tertinggal pada simplisia, lalu haluskan daun kalakai menggunakan blender dan simpan didalam toples kaca berwarna gelap agar tidak terkena sinar ultraviolet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia (Made *et al*, 2020).

Selanjutnya, untuk mendapatkan ekstrak kental dilakukan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70% dan metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dengan perbandingan 1:9 sebanyak 3 (tiga) kali replikasi selama 3x24 jam. Alasan memilih maserasi adalah keuntungan metode maserasi digunakan karena sederhana, relatif murah dan terjadinya kontak antar sampel dengan pelarut yang cukup lama memudahkan pelarut untuk mengikat senyawa yang ada pada sampel serta dalam menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Susanty, 2016). Alasan pemilihan pelarut etanol 70% yaitu karena etanol dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya Etanol memiliki titik didih yang rendah yaitu 79°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan. Selain itu, etanol merupakan jenis pelarut yang aman atau tidak bersifat beracun apabila dikonsumsi karena rendahnya tingkat toksisitas dibanding pelarut lain (Farida Y *et al.*, 2012).

Uji aktivitas antioksidan menggunakan uji FRAP ini dengan larutan vitamin C sebagai standar. Alasan memilih larutan vitamin C adalah vitamin C sebagai senyawa pembanding memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan murni pada ekstrak bahan alam (Khairiah *et al.*, 2018) Vitamin C sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Hal ini dikarenakan asam askorbat memiliki gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Kim, 2005)

Pengukuran kurva baku vitamin C dilakukan dengan dibuat larutan stok 1000 ppm yaitu 10 mg asam askorbat dilarutkan dengan etanol. Kemudian dibuat seri

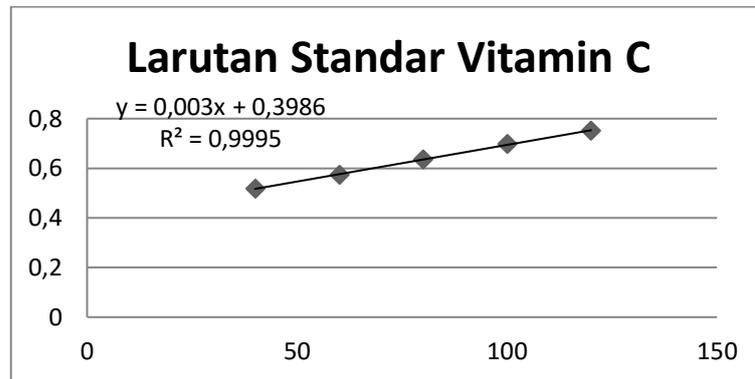
dari 10 mL masing-masing 0,2;0,3;0,4;0,5;0,6 dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan diencerkan dengan etanol (Aditama, 2020).

Selanjutnya diuji dengan menggunakan metode FRAP dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal pada spektrofotometri. Spektrofotometri UV-Vis digunakan karena kemampuannya dalam menganalisa begitu banyak senyawa kimia serta kepraktisannya dalam hal preparasi sampel apabila dibandingkan dengan beberapa metode analisa lainnya. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar saat analisis, sehingga lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibanding kualitatif (Rahim *et al.*, 2017). Data hasil pengukuran kurva baku vitamin C (Tabel 2.) adalah sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil pengukuran nilai absorbansi kurva baku vitamin C

Konsentrasi	Absorbansi
40	0,517
60	0,574
80	0,636
100	0,697
120	0,751

Dari hasil pengukuran kurva baku didapatkan hasil yaitu masing-masing seri konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm dengan didapatkan nilai absorbansi 0,517; 0,574; 0,636; 0,697; 0,751. Dari hasil pengukuran kurva baku, didapatkan juga persamaan regresi linieryaitu $y = 0,003x + 0,3986$ dengan nilai $R^2 = 0,09995$. Diketahui dari hasil pengukuran yang telah didapatkan sudah linier atau sudah memenuhi syarat kurva yang baik. Kurva baku yang baik memiliki nilai linieritas $r \geq 0,98$ (Fatmawati *et al.*, 2018).



Gambar 2 . Kurva baku vitamin C

Pada pengujian nilai aktivitas antioksidan dilakukan dengan 3 (tiga) kali replikasi, tujuan dibuatnya 3 (tiga) replikasi agar diperoleh data yang akurat (Andi *et al.*, 2019). Kemudian dari masing-masing ke 3 (tiga) replikasi tersebut ditambahkan 1 mL larutan dapar fosfat 0,2 M pH 6,6 dan 1 mL larutan kalium ferrisianida 1% dimana tujuannya adalah untuk menetralkan larutan dan mendeteksi besi FeCl_3 dalam larutan (Chemeurope, 2021). Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C , dengan tujuan untuk mempercepat reaksi pada suhu optimum (Wabula *et al.*, 2019). Kemudian dilakukan penambahan larutan TCA 10 % dengan tujuan agar kalium ferrisianida mengendap (Wabula *et al.*, 2019). Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan tujuan untuk memisahkan substansi dengan kepadatan lebih besar dan lebih kecil (Hawa *et al.*, 2019). Selanjutnya, setelah selesai dilakukan sentrifugasi dipipet 1 mL lapisan bagian atas ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL aquadest dan 0,5 mL FeCl_3 0,1%. Tujuan diberikannya FeCl_3 yaitu untuk membentuk kompleks hijau-biru (Maryam *et al.*, 2015).

Setelah itu didiamkan selama 10 menit, tujuannya untuk melihat reaksi yang terjadi serta perubahan warna yang terjadi yakni larutan sampel mengalami perubahan warna menjadi hijau kebiruan. (Lampiran 7.). Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 720 nm (Maryam *et al.*, 2015). Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut (Tabel 3.):

Tabel 3. Hasil Pengukuran nilai absorbansi ekstrak etanol daun kalakai

Replikasi	Absorbansi
I	0,681
II	0,876
III	0,782

Setelah dilakukan pengukuran kemudian dilanjutkan dengan penentuan nilai aktivitas antioksidan. Hasil dari regresi dari konsentrasi (x) dengan nilai absorbansi (y) kontrol positif diperoleh persamaan $y = 0,003x + 0,3986$ dengan nilai $R^2 = 0,09995$ dan untuk menghitung nilai aktivitas antioksidan dimasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan tersebut. Nilai FRAP dinyatakan dalam mg equivalen asam askorbat/ gr ekstrak (AAE). Kandungan vitamin C pada masing-masing replikasi dinyatakan equivalen asam askorbat atau *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE). AAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah vitamin c yang terdapat dalam suatu bahan (Maryam *et al.*, 2015).

Tabel 4. Hasil Penentuan Nilai Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kalakai

Replikasi	Berat Sampel (g)	Absorbansi Sampel	Aktivitas Antioksidan (mgAAE/g ekstrak)	Standar Deviasi	Antioksidan (mgAAE/g ekstrak)
I	0,005	0,681	94,13	22,98593	127,02
II	0,005	0,876	159,13		
III	0,005	0,782	127,8		

Kemudian didapatkan hasil pengukuran ekstrak etanol daun kalakai replikasi I (94,13), replikasi II (159,13) dan replikasi III (127,8) sehingga didapatkan nilai rata-rata dari sampel ekstrak etanol daun kalakai adalah sebesar 127,02 mgAAE/gr ekstrak artinya dalam setiap gram ekstrak mengandung 127,02 mg asam askorbat. Nilai tersebut merupakan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kalakai dimana dijelaskan bahwa pada penelitian sebelumnya menurut

(Maryam *et al.*, 2015; Andy *et al.*, 2019) menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan nilai FRAP dinyatakan dalam bentuk aquivalen yaitu hasil perhitungan sampel setara dengan sejumlah vitamin C dengan tanpa dijelaskan adanya kekuatan antioksidan seperti (sangat kuat, kuat dan sedang). Namun dalam penelitian (Fithriani *et al.*, 2015) sampel atau bahan yang memiliki antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai kapasitas antioksidan lebih dari 500 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$, kategori kuat apabila memiliki nilai kapasitas antioksidan antara 100-500 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$, dan sedang nilai kapasitas antioksidan antara 10-100 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$, sehingga nilai aktivitas antioksidan sebesar 127,02 mgAAE/gr ekstrak termasuk kategori antioksidan kuat karena memiliki kapasitas antioksidan antara 100-500 $\mu\text{mol Fe (II) g}^{-1}$.

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) menggunakan metode FRAP dengan kontrol positif vitamin C diperoleh aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) dengan rata-rata sebesar 127,02 mgAAE/g ekstrak dan termasuk dalam kategori kuat.

5.2 Saran

1. Perlu diperhatikan pada pengukuran kurva baku vitamin C untuk seri konsentrasi sampel.
2. Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kalakai menggunakan metode yang lain.

DAFTAR PUSAKA

- Adawiyah R., Umaternate A., Suryadini H., Abrar A., Cahyani D., & Alfirdaus S. 2023. Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Kalakai (*Stenochlaena Palutris* (Burm.F.) Bedd Pada Tikus Putih Wistar Secara In vivo. *Jurnal Ilmu Kefarmasian* ,Vol 4 No 1
- Aditama, F.H. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Gandum (*Triticium aestivum*) Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Karya Tulis Ilmiah*. STTKN Surakarta
- Afrianti, L.H. 2010. *Pengawet Makanan Lami dan Sintetis*. Bandung: Alfabeta
- Amtiran, R.A.D. 2019. Inventarisasi tumbuhan obat tradisional oleh masyarakat kecamatan kupang barat. *Karya tulis ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang : Kupang
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). *Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid*. *Jurnal Zarah*, Vol 6 No (1), Hlm 21–29.
- Benzie, I.F.F., & Strain, J.J, 1996, *The Ferric Reducing Ability of Plasma as a Measure of “Antioxidant Power”* : The FRAP assay, *Analytical Biochemical* 239: 70-76
- Dalimartha, S., 2013. *Ramuan Herbal Tumpas Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Dalimartha, S., Adrian F. 2013. *Fakta Ilmiah Buah dan Sayur*. Pratiwi K. Editor. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 2013. *Farmakope Herbal Edisi I*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta.
- Diini Fithriani¹, Sri Amini , Susiana Melanie , & Rini Susilowati., Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Nannochloropsis sp.* *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi, Kelautan dan Perikanan* 1907-9133

- Farida, Y., P.S. Wahyudi, S. Wahono, M. Hanafi. (2012). *Flavonoid Glycoside from The Ethyl Acetate Extract of Keladi Tikus Typhonium flagelliforme*, 1 (4):16- 21
- Fatmawati, S., Aisyah, V., Nurani, H.L., 2018. Validasi Metode Analisis -Karoten Dalam Ekstrak Etanol 96% Spirulina maxima Dengan Spektrofotometri Visibel. *Media Farmasi*, 15 (1), 1-13.
- Frasiandini I, 2012, *Struktur anatomi; struktur morfologi; Syringodium isoetifolium*, p. Mei.
- Gulcin, I., 2020. *Antioxidants and Antioxidant Methods: an updated Overview*. Archives of Toxicology, 94(3)
- Gustaman, F., Wulandari, T.W., Nurviana, V., Idacahyati, K., 2019. Antioxidant Activity of Pining (*Hornstedtia alliacea*) By using DPPH Method. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 11 (1), 70.
- Halvorsen, B.L., Holte, Kari., Myhrstad, Mari C. W., Barikmo, I., Hvattum Erlend, Remberg Siv Fagertun, Wold Anne-Brit, Haffner Karin, Baugerød Halvard, Andersen Lene Frost , Moskaug Jan, Jacobs David R , Blomhoff Rune ,2002, A Systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plants, *Journal of Nutrition*.
- Hasibuan , Elliwati. 2015. Pengenalan Spektrofotometri pada mahasiswa yang melakukan *penelitian di laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Usu*. Universitas Sumatera utara : Medan
- Hassanbaglou, B., Hamid, A. A., Roheeyati, A. M., Saleh, N. M., Abdulamir, A. S., Khatib, A., Sabu, M. C, 2012, Antioxidant Activity of Different Extracts From Leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae), *Journal of Medicinal Plants Research* Volume 6 (15): 2932-2937
- Kim, O.S., 2005, Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of the Vitamin Fraction In rice bran. *J Food Sci.*(3): 208-213
- Kuntorini, M, E., Fitriana, S., Astuti, D, M., 2013. Struktur Anantomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding Semirata*, 291-295.
- Irmawati, 2014, *Keajaiban Antioksidan* . Padi : Jakarta

- Irma, W. and Herlina, N. 2013. Keanekaragaman Hayati Tumbuhan Paku (Pteridophyta) di Desa Gading Sari Kec.Tapung Kab. Kampar Provinsi Riau. *Photon: Jurnal Sain dan Kesehatan*. 4, 1 (Oct. 2013), 65-70.
- Irawan., 2019. Kalibrasi Spektrofotometer sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1-9
- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyantri, D., Anshori, A, J., 2019. Validasi Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *Kandaga*, 1(1), 41-45.
- Jatmika, Catur; Maggadani, Baitha Palanggatan; and Hayun, Hayun (2015) "Evaluasi Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazoli-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan Analognya. *Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 2 (3)
- Made Aditya Dharma , K. A Nocianitri , Ni Luh Ari Yusasrini. 2020. *Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh*. Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali.
- Maharani, Haidah, & Hainiyah. 2006. *Studi Potensi Kalakai Sebagai Pangan Fungsional*. Kumpulan Makalah PIMNAS XIX, 26-29 Juli di Universitas Muhamadiyah Malang
- Maryam, S., Baits, M., Nadia, A., 2015. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 115-118.
- Munawaroh, S., Handayani., 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*). *Jurnal Kompetensi Teknik*, 2(1), 73-78
- Munte, L., Runtuwene, R, M., Citraningtyas, G., 2015. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve Vahl.*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(3), 41-42.
- Nirwana, A.P., Astirin, O.P., and Widiyani, T., 2015. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kalakai (*Dendrophthoe pentandra L. Miq.*)*. El-vivo., 3(2),11.
- Putri Ariani, A. 2017. Ilmu Gizi Dilengkapi dengan Standar Penilaian Status Gizi Dan Daftar Komposisi Bahan Makanan. Yogyakarta : Nuha Medika.
- Rabeta, M.S & Faraniza N., Total Phenolic Content and Ferric Reducing Antioxidant Power of The Leaves and Fruits of *Garcinia atrovirdis* and

Cynometra cauliflora. *International Food Research Journal* 20(4): 1691-1696

Rahim N. *Penentuan Kadar Hidrokuinon dalam Krim Pemutih Wajah dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Pekanbaru; 2011.

Ratnawati, G. J., & Indrawati, R. (2019). *Analisis Kadar Fe pada Lemiding Tua dan Muda di Wilayah Kubu Raya Kalimantan Barat*.

Rheytno Asdin Wabula, Seniwati, Harti Widiastuti., *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Merah (Pandanus conoideus Lam) dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)*. *Jurnal Kesehatan*. UMI

Roanisca & Mahardika, 2017. *Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia dari Ekstrak Etil Asetat Pucuk Idat (Cratoxylum glaucum)*. Universitas Pattimura

Rohman, A., Gandjar, G, I., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar

Sada, T. Jane & Tanjung H.R. Rosye. 2010. *Keragaman Tumbuhan Obat Tradisional di Kampung Nansfori Distrik Supiori Utara, Kabupaten Supiori-Papua*. *Jurnal Biologi Papua*. Vol.2. No.2. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cendrawasih. Jayapura.

Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Rahmawati, C.P., and Mulyani, B., 2014. *Skrining Fitokimia dan Identitas Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. *Kimia Organik Alam*.,273-274

Sinaga,S.U.M. 2018. *Uji efek antibakteri ekstrak etanol daun sendok(Plantago major L) terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli*. *Karya Tulis Ilmiah* . Universitas Sumatera Utara : Medan.

Susanty. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea mays L)*, *Jurnal Konversi* Vol. 5 No. 1

Sutomo, R.Y & Arnida. 2010. *Skrining Farmakologi Ekstrak Methanol Herba Kalakai Stenochlaena palustris (Burm.f.) Bedd Terhadap Aktivasnya Sebagai Antidiare*. *Jurnal Farmasi Universitas Lambung Mangkurat*.

Wijayakusuma H., 2001. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia : Rempah, Rimpang, dan Umbi*. Jakarta : Milenia Populer

Winarsi H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus

Yefrida; Ulfaningsih, M.; Loekman, U.: Validasi Metode Penentuan Antioksidan Total (Dihitung sebagai Asam Sitrat) dalam Sampel Jeruk secara Spektrofotometri dengan Menggunakan Oksidator FeCl₃ dan Pengompleks Orto-Fenantrolin. *Jurnal Riset Kimia*, 2014, 2, 7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Tugas



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PALANGKARAYA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LP2M)
Jl. R.T.A. Milono Km. 1,5 Palangka Raya – Kalimantan Tengah, e-mail : lp2m@umpalangkaraya.ac.id

SURAT TUGAS

Nomor : 222/PTM63.R7/LP2M/1/T/2023

Menindaklanjuti Program Kerja Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Muhammadiyah Palangkaraya (LP2M UM Palangkaraya) Tahun 2023 berupa pelaksanaan kegiatan Penelitian, maka LP2M UM Palangkaraya menugaskan kepada yang tertera namanya di bawah ini :

NO	NAMA	NIDN	PROGRAM STUDI
1	apt. Rabiatul Adawiyah, S.Farm., I	123018201	D III Farmasi
2	apt. Dewi sari Mulia, S.Farm., M.Si	1123098702	D III Farmasi
3	Sandrilla	-	-

Untuk melaksanakan Penelitian yang berjudul **"UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN KALAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm. F) Bedd) MENGGUNAKAN METODE FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*)"** lokasi Kota Palangkaraya pada bulan April sampai bulan Juli 2023. Atas penugasan tersebut, kepada yang bersangkutan setelah melaksanakan kegiatan diwajibkan menyusun dan menyampaikan :

1. Laporan Hasil Penelitian
2. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian
3. Sinopsis Penelitian

Demikian surat tugas ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya dan dilaksanakan dengan penuh tanggungjawab.

Palangka Raya, 05 April 2023



Kepala LP2M,
Dr. Nurul Hikmah Kartini, S.Si., M.Pd
NIK. 12.0203.008

Tembusan Kepada Yth:

1. Rektor UM Palangkaraya
2. Ketua SPI UM Palangkaraya
3. Arsip

SURAT TUGAS PENELITIAN	Kode/No.	Tanggal Terbit	Revisi	Halaman
	F/LP3MPT/F.07-1.e	12 Februari 2020	0	1 dari 1

Lampiran 2. Determinasi Tumbuhan

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 406/ 102.7-A/ 2021
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kalakai**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : ANDIKA JAYA SAPUTRA / 18.71.093332
DINI OKTAVIANI / 18.71.019274
Fakultas : ILMU KESEHATAN, UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PALANGKARAYA

1. Perihal determinasi tanaman kalakai

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Pteridophyta (paku-pakuan)
Kelas	: Pteridopsida
Ordo	: Polypodiales
Famili	: Polypodiaceae
Genus	: Stenochlaena
Spesies	: <i>Stenochlaena palustris</i> (Burm.f.) Bedd.
Sinonim	: <i>Polypodium palustre</i> Burm.f. = <i>Onoclea scandens</i> Sw. = <i>Lomaria scandens</i> (Sw.) Willd.

Nama Daerah : Paku udang, pakis udang, paku hurang, lemidi, lemidung, ramiding (Indonesia); lambiding (Aceh); lamidin, pau rara (Sumatera Utara); paku limbèh (Sumatera Barat); paku hurang (Jawa Barat); pakis bang (Jawa Timur); bampèsu, maja-majang, bempèsu, wèwèsu (Sulawesi Selatan); kelakai, kalakai (Kalimantan Selatan).

Kunci Determinasi : 1a-17b-18b-19b-22b-23b-24b-25b-26b-1a-2b-1.

2. Morfologi : Habitus: Hidup di tanah, menjalar, panjang hingga 5–10 m. Batang: Tegak, semu, membentuk rimpang. Daun: Daun dalam dua bentuk, yang steril dan yang fertil, panjang antara 40–80 cm, dengan tangkai 15–20 cm dan 8–15 pasang anak daun, serta satu anak daun terminal, tulang daun utama dengan alur (lekukan) di sisi atasnya. Anak Daun: Anak-anak daun lateral biasanya memiliki pelebaran serupa cuping telinga di pangkalnya, yang tidak dimiliki oleh anak daun ujung, anak-anak daun di bagian atas (mendekati ujung) biasanya lebih kecil; anak-anak daun pada daun steril bertangkai pendek, bentuk jorong sempit, biasanya 15 × 3 cm, halus, mengkilap, hijau gelap, pucat di sisi bawah, tepinya bergerigi, memiliki kelenjar di tepi anak daun dekat pangkal; anak-anak daun pada daun fertil bentuk garis, ukuran 20 cm × 3 mm, permukaan bawahnya penuh dengan sporangia. Akar: Rimpang memanjat tinggi, kuat, pipih persegi, gundul atau bersisik sangat jarang, acap kali dengan tunas merayap.

3. Bagian yang digunakan : Akar.
4. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia I*. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 04 Juni 2021

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU


ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
DINAS KESEHATAN
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Perhitungan

a. Cawan Porselen I

$$\begin{aligned}\text{Bobot cawan kosong} &= 50,2247 \text{ gram} \\ \text{Bobot cawan + ekstrak} &= 68,8235 \text{ gram} \\ \text{Bobot ekstrak kental} &= (\text{bobot cawan+ekstrak}) - \text{bobot cawan} \\ &\quad \text{kosong} \\ &= 68,8235 \text{ gram} - 50,3347 \text{ gram} \\ &= 18,4888 \text{ gram}\end{aligned}$$

b. Cawan Porselen II

$$\begin{aligned}\text{Bobot awal kosong} &= 65,5084 \text{ gram} \\ \text{Bobot cawan + ekstrak} &= 69,3037 \text{ gram} \\ \text{Bobot ekstrak kental} &= (\text{bobot cawan+ekstrak}) - \text{bobot cawan} \\ &\quad \text{kosong} \\ &= 69,3037 \text{ gram} - 65,5084 \text{ gram} \\ &= 3,7953 \text{ gram}\end{aligned}$$

c. Perhitungan Rendemen Ekstrak

• Cawan Porselen I

$$\begin{aligned}\text{Berat Serbuk Simplisia yang diekstraksi} &= 1000 \text{ gram} \\ \text{Berat Cawan Porselen Kosong I} &= 50,2247 \text{ gram} \\ \text{Berat cawan + Ekstrak Kental} &= 68,8235 \text{ gram} \\ \text{Berat Ekstrak Kental yang didapat} &= 68,8235 \text{ gram} - 50,3347 \\ \text{gram} & \\ &= 18,4888 \text{ gram}\end{aligned}$$

Perhitungan Rendemen

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental yang didapat}}{\text{bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{18,4888}{1000} \times 100\% \\ &= 0,184888\%\end{aligned}$$

- **Cawan Porselen II**

Berat Serbuk Simplisia yang diekstraksi	= 1000 gram
Berat Cawan Porselen Kosong II	= 65,5084 gram
Berat cawan + Ekstrak Kental	= 69,3037 gram
Berat Ekstrak Kental yang didapat	= 69,3037 gram – 65,5084 gram
	= 3,7953 gram

Perhitungan Rendemen

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental yang didapat}}{\text{bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{3,7953}{1000} \times 100\% \\ &= 0,37953\% \end{aligned}$$

d. Perhitungan Aktivitas antioksidan

Regresi linier kurva baku Asam Askorbat

$$y = bx + a$$

$$y = 0,003x + 0,3986$$

- **Replikasi I**

$$\text{Absorbansi sampel} = 0,681$$

Masukkan ke persamaan $y = bx + a$

$$0,681 = 0,003x + 0,3986$$

$$x = 94,13$$

Masukkan ke Rumus Aktivitas Antioksidan

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Antioksidan} &= \frac{(\text{konsentrasi sampel} \times \text{volume sampel})}{\text{bobot sampel}} \times \text{fp} \\ &= \frac{(94,13 \times 5 \text{ mL})}{5 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 94,13 \text{ mgAAE/g ekstrak} \end{aligned}$$

- **Replikasi II**

Absorbansi sampel = 0,876

Masukkan ke persamaan $y = bx + a$

$$0,876 = 0,003x + 0,3986$$

$$x = 159,13$$

Masukkan ke Rumus Aktivitas Antioksidan

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas Antioksidan} &= \frac{(\text{konsentrasi sampel} \times \text{volume sampel})}{\text{bobot sampel}} \times \text{fp} \\ &= \frac{(159,13 \times 5 \text{ mL})}{5 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 159,13 \text{ mgAAE/g ekstrak}\end{aligned}$$

- **Replikasi III**

Absorbansi sampel = 0,782

Masukkan ke persamaan $y = bx + a$

$$0,782 = 0,003x + 0,3986$$

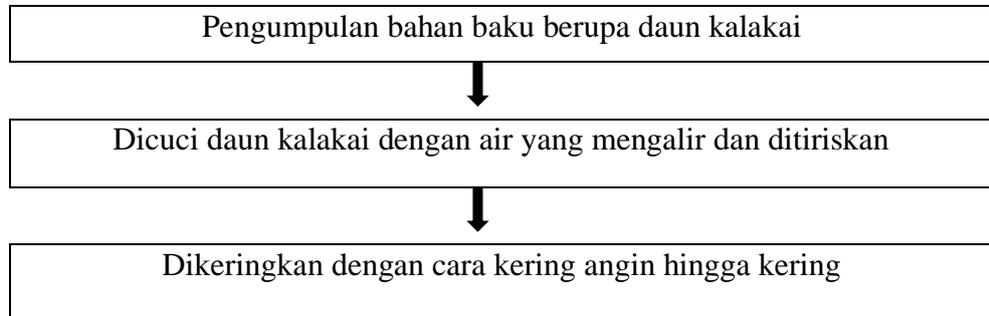
$$x = 127,8$$

Masukkan ke Rumus Aktivitas Antioksidan

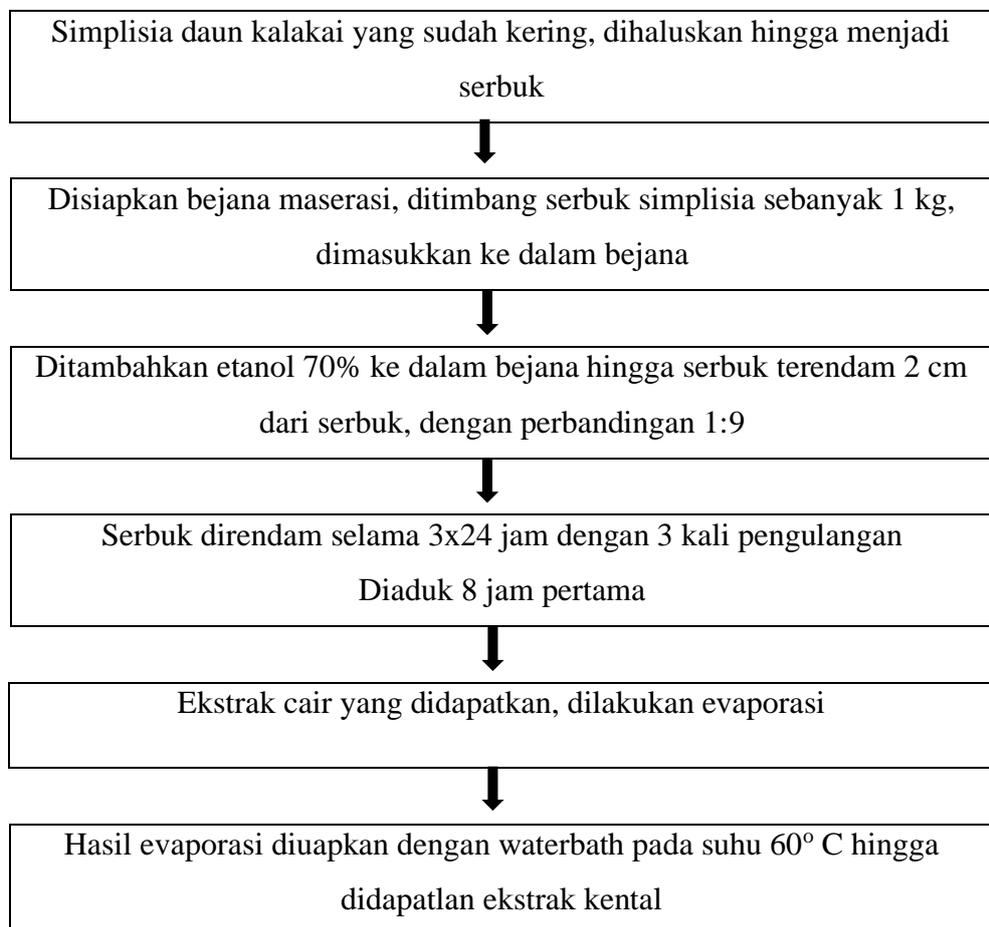
$$\begin{aligned}\text{Aktivitas Antioksidan} &= \frac{(\text{konsentrasi sampel} \times \text{volume sampel})}{\text{bobot sampel}} \times \text{fp} \\ &= \frac{(127,8 \times 5 \text{ mL})}{5 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 127,8 \text{ mgAAE/g ekstrak}\end{aligned}$$

Lampiran 4. Skema Prosedur Kerja

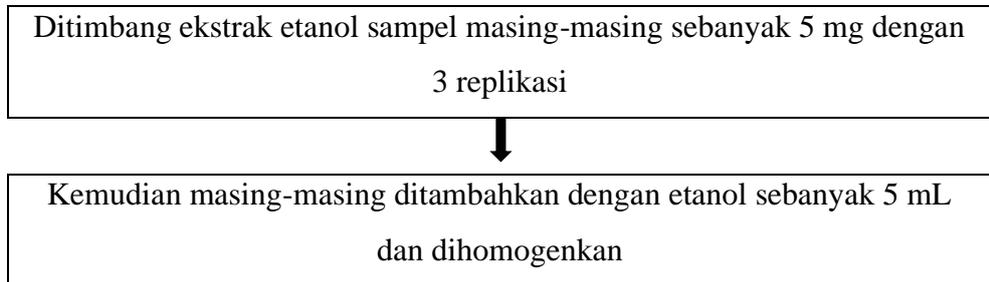
1. Pembuatan Simplisia Daun Kalakai



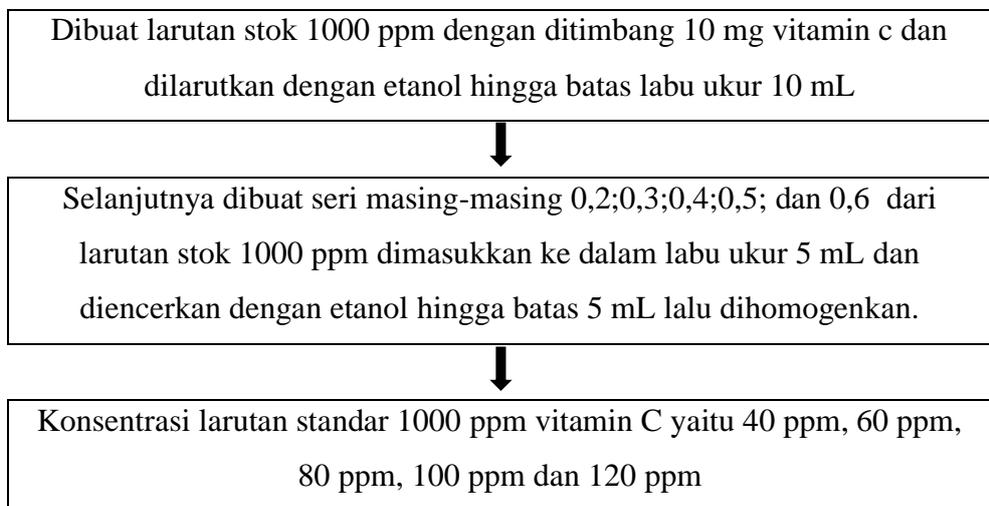
2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kalakai



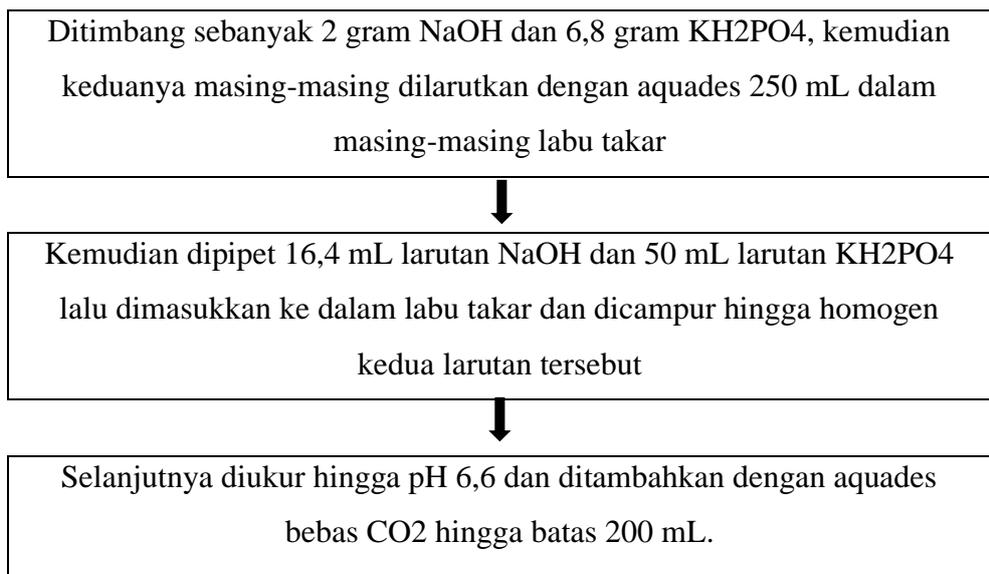
3. Pembuatan Sampel Ekstrak Etanol



4. Pembuatan Larutan Baku Vitamin C



5. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat 0,2 M pH 6,6



6. Pembuatan Larutan Kalium Ferrisianida 1%

Ditimbang sebanyak 1 gram Kalium ferrisianida 1 %, kemudian dilarutkan dengan aquades



Diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

7. Pembuatan Larutan FeCl_3 0,1%

Ditimbang sebanyak 0,1 gram FeCl_3 , kemudian dilarutkan dengan aquades



Diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

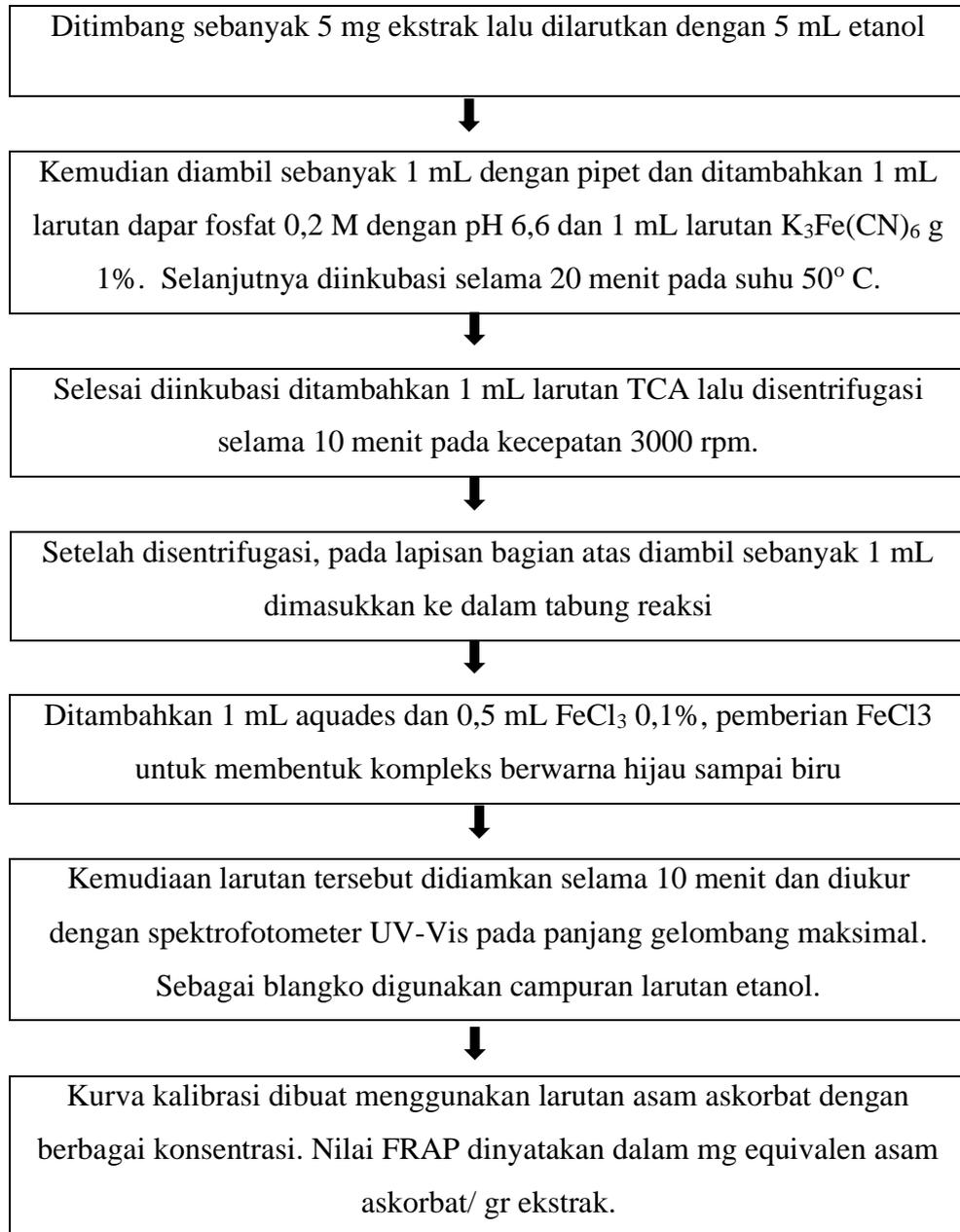
8. Pembuatan Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10%

Ditimbang sebanyak 10 gram TCA, kemudian dilarutkan dengan aquades



Diencerkan hingga 100 mL dalam labu takar.

9. Uji Aktivitas Antioksidan Metode FRAP dengan Pelarut Etanol



Lampiran 5. Pembuatan Simplisia

No	Gambar	Keterangan
1.	 <p data-bbox="421 846 842 920">Gambar 3. Proses Pengambilan Kalakai</p>	Proses pengumpulan daun kalakai
2.	 <p data-bbox="501 1312 759 1346">Gambar 4. Kalakai</p>	Daun kalakai
3.	 <p data-bbox="485 1821 778 1854">Gambar 5. Pencucian</p>	Proses pencucian tumbuhan kalakai

4.	 <p>Gambar 6. Sortasi basah</p>	Proses pemisahan daun dengan batang
5.	 <p>Gambar 7. Pengeringan</p>	Metode pengeringan yang dilakukan yaitu metode diangin-anginkan
6.	 <p>Gambar 8. Proses penghalusan</p>	Proses ini dilakukan untuk mendapatkan serbuk simplisia

Lampiran 6. Proses Pembuatan Ekstrak Kalakai

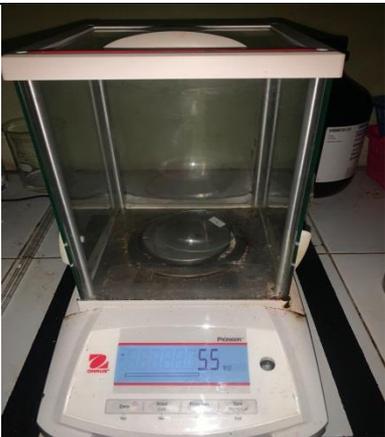
No.	Gambar	Keterangan
1.	 <p data-bbox="464 813 799 853">Gambar 9. Penimbangan</p>	Proses penimbangan simplisia daun kalakai
2.	 <p data-bbox="403 1283 863 1359">Gambar 10. Perendaman simplisia daun kalakai</p>	Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%
3.	 <p data-bbox="421 1834 845 1874">Gambar 11. Proses pengadukan</p>	Pengadukan bertujuan agar etanol menyebar dengan sempurna

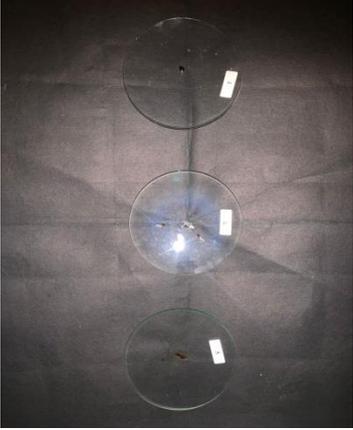
4.	 <p>Gambar 12. Ditutup dengan menggunakan aluminium foil</p>	Proses ini dilakukan agar etanol tidak menguap, lalu disimpan ditempat yang gelap selama 1x24 jam dengan replikasi 3 kali
5.	 <p>Gambar 13. Penyaringan</p>	Proses ini dilakukan untuk menyaring ekstrak cair dan simplisia
6.	 <p>Gambar 14. Evaporasi</p>	Proses pengurangan kadar etanol

7.	 <p data-bbox="472 703 791 741">Gambar 15. Watertbath</p>	<p data-bbox="903 309 1362 383">Proses ini dilakukan hingga ekstrak etanol daun mengental</p>
8.	 <p data-bbox="448 1292 815 1330">Gambar 16. Ekstrak Kental</p>	<p data-bbox="967 768 1299 842">Hasil ekstrak kental yang didapatkan</p>

Lampiran 7. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Menggunakan Metode FRAP

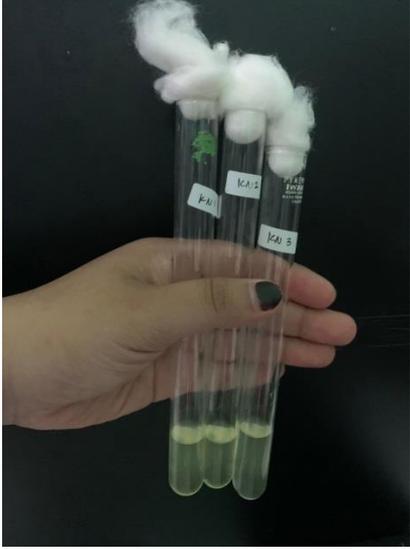
No.	Gambar	Keterangan
1.	 <p data-bbox="507 824 762 857">Gambar 17. NaOH</p>	Proses penimbangan NaOH
2.	 <p data-bbox="496 1330 778 1364">Gambar 18. KH₂PO₄</p>	Proses penimbangan KH ₂ PO ₄
3.	 <p data-bbox="421 1883 852 1917">Gambar 19. Kalium Ferrisianida</p>	Proses penimbangan kalium ferrisianida

4.	 <p data-bbox="512 768 759 801">Gambar 20. FeCl₃</p>	Proses penimbangan FeCl ₃
5.	 <p data-bbox="405 1288 866 1361">Gambar 21. Sampel ekstrak etanol daun kalakai</p>	Proses penimbangan ekstrak etanol daun kalakai
6.	 <p data-bbox="480 1832 791 1865">Gambar 22. Vitamin C</p>	Proses penimbangan vitamin C

7.	 <p>Gambar 23. Replikasi penimbangan sampel</p>	Replikasi 1, 2, dan 3
8.	 <p>Gambar 24. pH meter</p>	Pengukuran pH larutan dapar fosfat
9.	 <p>Gambar 25. Larutan</p>	Sediaan reagen metode FRAP

10.	 <p>Gambar 26. Larutan vitamin C</p>	Larutan vitamin C dengan seri 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm
11.	 <p>Gambar 27. Ekstrak sampel</p>	Replikasi ekstrak sampel dengan pelarut etanol 70%
12.	 <p>Gambar 28. Inkubasi</p>	Proses inkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C

13.	 <p style="text-align: center;">Gambar 29. Sentrifugasi</p>	Proses disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm
14.	 <p style="text-align: center;">Gambar 30. Larutan ekstrak sampel sesudah sentrifugasi</p>	Sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan tujuan untuk memisahkan substansi dengan kepadatan lebih besar dan lebih kecil
15.	 <p style="text-align: center;">Gambar 31. Larutan vitamin C sesudah sentrifugasi</p>	Sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan tujuan untuk memisahkan substansi dengan kepadatan lebih besar dan lebih kecil

16.	 <p>Gambar 32. Larutan ekstrak sampel didiamkan selama 10 menit</p>	<p>Tujuannya adalah untuk melihat reaksi yang terjadi serta perubahan warna yang terjadi yakni larutan sampel mengalami perubahan warna menjadi hijau kebiruan.</p>
17.	 <p>Gambar 33. Larutan vitamin C didiamkan selama 10 menit</p>	<p>Didiamkan selama 10 menit, tujuannya untuk melihat reaksi yang terjadi serta perubahan warna yang terjadi yakni larutan sampel mengalami perubahan warna menjadi hijau kebiruan.</p>

18.



Gambar 34. Spektrofotometri UV-Vis

Pembacaan nilai absorbansi ekstrak sampel dan vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Vis

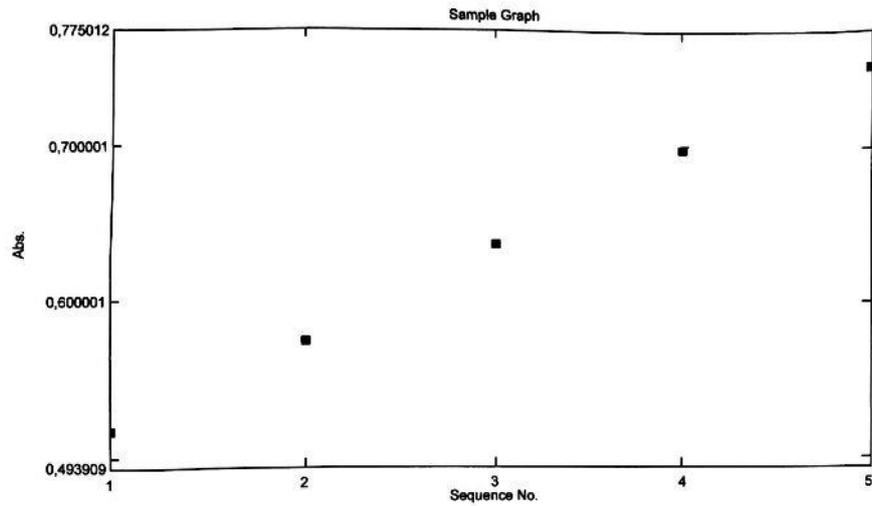
Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil Pengukuran Larutan Baku Vitamin C

Sample Table Report

04/01/1980 02:48:02

File Name: D:\sandrila farmasi\larutan standar vit c fixes.unk



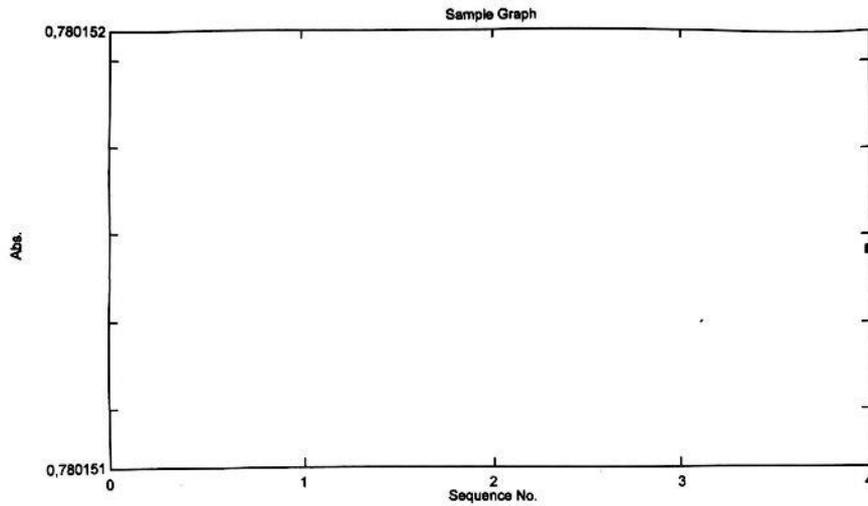
Sample ID	Type	Ex	WL720,0	Comments
1	40 ppm	Unknown	0,517334	
2	60 ppm	Unknown	0,574463	
3	80 ppm	Unknown	0,636719	
4	100 ppm	Unknown	0,697632	
5	120 ppm	Unknown	0,751587	
6				

Gambar 36. Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi Sampel Ekstrak Etanol Daun Kalakai

Sample Table Report

04/01/1980 01:51:14

File Name: D:\sandriila farmasi\replikasi ekstrak kalakai.unk



Sample Table					
Sample ID	Type	Ex	WL720,0	Comments	
1	ektrak kalakai	Unk-Repeat	0,681152		
2	ektrak kalakai-	Unk-Repeat	0,676709		
3	ektrak kalakai-	Unk-Repeat	0,782593		
4	ektrak kalakai-	Average	0,780151	Avg of preceding 3 Samples	
5					