**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN *(Thitonia diversifolia)* DENGAN METODE DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

****

**NENGSI PARDEDE**

**P07539020100**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN**

**JURUSAN FARMASI**

**2023**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN *(Thitonia diversifolia)* DENGAN METODE DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

Sebagai Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program

Studi Diploma III Farmasi

****

**NENGSI PARDEDE**

**P07539020100**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN**

**JURUSAN FARMASI**

**2023**

# LEMBAR PERSETUJUAN

****

**LEMBAR PENGESAHAN**

# SURAT PERNYATAAN

UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUNINSULIN *(Thitonia difersifolia)* DENGAN METODE DPPH *(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini belum pernah diajukan pada perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini.

Medan, Juni 2023

NENGSI PARDEDE

NIM.P07539020100

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN**

**JURUSAN FARMASI**

**KTI, JUNI 2023**

**NENGSI PARDEDE**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN *(Thotonia difersifolia)* Dengan METODE DPPH *(1,1–Diphenyl-2-picrylhydrazyl)***

**xv+ 46 halaman, 3 tabel, 2 gambar, 3 grafik, 8 lampiran**

# ABSTRAK

Daun insulin atau *Thitonia difersifolia* merupakan tumbuhan yang umumnya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, antivirus, anti malaria, dan radang tenggorokan. Daun Insulin mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, tanin, serta saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antioksidan ekstrak etanol daun insulin (*Thitonia difersifolia*) yang diukur menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan untuk mengetahui nilai Inhibitory Concentration (IC50) ekstrak etanol daun insulin yang di uji dengan vitamin C sebagai larutan pembanding atau kontrol positif.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan dasain penelitian Posttest Only Control Group dengan larutan kontrol negatif dan membandingkannya dengan larutan kontrol positif sebagai pembanding untuk mendapatkan perbedaan nilai keduanya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa efektivitas antioksidan ekstrak etanol daun insulin yang diukur menggunakan metode DPPH adalah sedang. Efektivitas antioksidan vitamin C sebagai larutan pembanding atau kontrol positif yang diukur dengan spektrovotometer vis menggunakan metode DPPH adalah kuat. Perbandingan efektivitas antioksidan ekstrak etanol daun insulin dengan vitamin C ditunjukkan dengan nilai IC50 sebesar 144,7 ppm dan 88,08 ppm.

Kesimpulan penelitian ini efektivitas antioksidan ekstrak etanol daun insulin yang diukur menggunakan metode DPPH adalah sedang.

Kata kunci : Antioksidan, Ekstrak, Daun Insulin, DPPH

Daftar Bacaan : 19 (2013 – 2022)

**MEDAN HEALTH POLYTECHNICS OF MINISTRY OF HEALTH**

**PHARMACY DEPARTMENT**

**SCIENTIFIC PAPER, JUNE 2023**

**Nengsi Pardede**

**TEST OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF INSULIN LEAF ETHANOL EXTRACT (Thotonia difersifolia) Using the DPPH METHOD (1,1–Diphenyl-2-picrylhydrazyl)**

**xi+ 46 pages, 3 tables, 2 pictures, 3 graphs, 8 appendices**

# ABSTRACT

Insulin leaves or Thitonia difersifolia is a type of plant whose leaves are widely used. These leaves can be used as antidiabetic, antiviral, antimalarial, and sore throat. Insulin leaves contain flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. This study aims to determine the antioxidant effect of the ethanol extract of insulin leaves (Thitonia difersifolia) as measured using the DPPH method (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) and to determine the Inhibitory Concentration (IC50) value of the ethanol extract of insulin leaves, tested with vitamins C as a comparison solution or positive control.

This research is an experimental study designed on the basis of the Posttest Only Control Group with a negative control solution and compared it with a positive control solution as a comparison to get the difference in the values of the two.

The results showed that the antioxidant effect of the ethanol extract of insulin leaves, measured using the DPPH method, was in the moderate category. The antioxidant effect of vitamin C as a positive comparison or control solution, measured by the vis spectrovotometer using the DPPH method, is in the strong category. Comparison of the antioxidant effect of the ethanol extract of insulin leaves with vitamin C, was shown by the IC50 values reaching 144.7 ppm and 88.08 ppm.

The conclusion of this study is that the antioxidant effect of the ethanol extract of insulin leaves, measured by the DPPH method, is in the moderate category.

Keywords: Antioxidants, Extracts, Insulin Leaves, DPPH

References : 19 (2013 – 2022)



# KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan rahmat-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik. Adapun judul Karya Tulis Ilmiah ini adalah **“Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Insulin *(Thitonia difersivolia)* Dengan Metode DPPH *“(1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl)”.***

Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Diploma III Jurusan Farmasi di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan. Pada penyelesaiannya penulis mendapat banyak bimbingan, saran, dukungan, bantuan serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan rasa terimakasih kepada :

1. Ibu RR. Sri Arini Winarti Rinawati, SKM., M. Kep, selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Medan.
2. Ibu Nadroh br. Sitepu, M. Si., Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.
3. Ibu Masrah, S.Pd, M.Kes selaku Pembimbing Akademik yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis.
4. Bapak Zulfikri, M.Si., Apt Selaku Pembimbing dan Ketua Penguji Karya Tulis Ilmiah dan Ujian Akhir Program yang selalu membimbing dan memberi masukan serta saran kepada penulis.
5. Ibu Pratiwi Rukmana Nasution, M.Si., Apt, selaku penguji I KTI dan Ibu Rosnike Merly Panjaitan, ST., M. Si, selaku Penguji II KTI yang telah menguji dan memberi masukan serta saran kepada penulis.
6. Seluruh dosen dan staf Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.
7. Teristimewa kedua orangtua yang sangat penulis sayangi dan cintai, Ayah Jarudin Pardede dan Ibu Hotmarida Nababan, serta seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan kepada penulis disaat senang maupun susah, serta tak pernah berhenti berdoa dengan penuh kesabaran dan kasih sayang memberi nasihat kepada penulis.
8. Teman penulis, tim antioksidan dpph saya yang senantiasa selalu membantu dikala penulis sedang dalam kesusahan, yang selalu menemani penulis dalam keadaan senang maupun susah, serta saling mendoakan dan memberi dukungan penuh kepada penulis.
9. Teman-teman satu kos penulis, yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama penelitian dan penyusunan KTI.
10. Seluruh teman-teman seperjuangan Mahasiswa dan Mahasiswi angkatan 2020 di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata Penulis mengucapkan terima kasih dan semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Medan, Juni 2023

Penulis

Nengsi Pardede

NIM P07539020100

**DAFTAR ISI**

Halaman

[LEMBAR PERSETUJUAN i](#_Toc143509947)

[LEMBAR PENGESAHAN ii](#_Toc143509948)

[SURAT PERNYATAAN iii](#_Toc143509949)

[ABSTRAK iv](#_Toc143509950)

[ABSTRACT v](#_Toc143509951)

[KATA PENGANTAR vi](#_Toc143509952)

[DAFTAR TABEL x](#_Toc143509953)

[DAFTAR GAMBAR xi](#_Toc143509954)

[DAFTAR LAMPIRAN xii](#_Toc143509955)

[BAB I](#_Toc143509956) [PENDAHULUAN 1](#_Toc143509957)

[1.1 Latar Belakang 1](#_Toc143509958)

[1.2 Rumusan Masalah 3](#_Toc143509959)

[1.3 Tujuan Penelitian 3](#_Toc143509960)

[1.4 Manfaat Penelitian 3](#_Toc143509961)

[BAB II](#_Toc143509962) [TINJAUAN PUSTAKA 4](#_Toc143509963)

[2.1 Daun Insulin (Thitonia diversifolia) 4](#_Toc143509964)

[2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan 4](#_Toc143509965)

[2.1.2 Nama Lain 5](#_Toc143509966)

[2.1.3 Morfologi Tumbuhan 5](#_Toc143509967)

[2.1.4 Kandungan dan Manfaat 5](#_Toc143509968)

[2.2 Simplisia 5](#_Toc143509969)

[2.2.1 Pembuatan simplisia 6](#_Toc143509970)

[2.3 Ekstrak dan Ekstraksi 8](#_Toc143509971)

[2.3.1 Cara Dingin 8](#_Toc143509972)

[2.4 Antioksidan 9](#_Toc143509973)

[2.5 Uji DPPH ( 1,1-dipenil-2-pikrihidrazil) 10](#_Toc143509974)

[2.6 Penentuan Efek Antioksidan dengan Metode DPPH 11](#_Toc143509975)

[2.7 Uji Spektrofotometer UV-Vis 13](#_Toc143509976)

[2.8 Kerangka konsep 14](#_Toc143509977)

[2.9 Defenisi Operasional 14](#_Toc143509978)

[2.10 Hipotesis 14](#_Toc143509979)

[BAB III](#_Toc143509980) [METODE PENELITIAN 15](#_Toc143509981)

[3.1 Jenis Penelitian dan Desain Penelitian 15](#_Toc143509982)

[3.1.1 Jenis Penelitian 15](#_Toc143509983)

[3.1.2 Desain Penelitian 15](#_Toc143509984)

[3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian 15](#_Toc143509985)

[3.2.1 Lokasi Penelitian 15](#_Toc143509986)

[3.2.2 Waktu Penelitian 15](#_Toc143509987)

[3.3 Alat dan Bahan yang digunakan 15](#_Toc143509988)

[3.3.1 Alat 15](#_Toc143509989)

[3.3.2 Bahan 15](#_Toc143509990)

[3.4 Pengambilan Sampel 15](#_Toc143509991)

[3.5 Pembuatan Simplisia 16](#_Toc143509992)

[3.6 Perhitungan Volume Etanol 70% 16](#_Toc143509993)

[3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Insulin Secara Maserasi 16](#_Toc143509994)

[3.8 Prosedur Kerja 17](#_Toc143509995)

[3.8.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,5 Mm 17](#_Toc143509996)

[3.8.2 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Insulin 17](#_Toc143509997)

[3.8.3 Pembuatan Larutan Pembanding 18](#_Toc143509998)

[3.9 Pengujian Metode DPPH Dengan Spektrofotometer Vis 18](#_Toc143509999)

[3.9.1 Optimasi Panjang Gelombang DPPH 18](#_Toc143510000)

[3.9.2 Pengujian Vitamin C 18](#_Toc143510001)

[3.9.3 Pengujian Ekstrak 18](#_Toc143510002)

[BAB IV](#_Toc143510003) [HASIL DAN PEMBAHASAN 21](#_Toc143510004)

[4.1 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Insulin 21](#_Toc143510005)

[4.2 Hasil Analisis Efektivitas Antioksidan 21](#_Toc143510006)

[4.2.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum 21](#_Toc143510007)

[4.2.2 Hasil Penentuan Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Insulin 21](#_Toc143510008)

[BAB V](#_Toc143510009) [KESIMPULAN DAN SARAN 25](#_Toc143510010)

[5.1 Kesimpulan 25](#_Toc143510011)

[5.2 Saran 25](#_Toc143510012)

[DAFTAR PUSTAKA 26](#_Toc143510013)

[LAMPIRAN 28](#_Toc143510014)

# DAFTAR TABEL

[Tabel 2. 1 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan 11](#_Toc137165662)

[Tabel 4. 1 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Insulin 21](#_Toc137165649)

[Tabel 4. 2 Hasil Absorbansi Ekstrak Etanol Daun Insulin Terhadap DPPH 22](#_Toc137165650)

# DAFTAR GAMBAR

[Gambar 2. 1 Tumbuhan Daun Insulin 4](#_Toc129071486)

[Gambar 2. 2 Penentuan struktur DPPH dari radikal bebas (a) menjadi bentuk non radikalnya (b) 12](#_Toc129071487)

[Gambar 4.1 Grafik Hasil Perbandingan Nilai Absorbansi Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding](#_Toc137166156)…………………………………………………………………………………………24

[Gambar 4. 2 Grafik Hasil Perbandingan Nilai IC50 Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding 23](#_Toc137166157)

[Gambar 4.3 Grafik Hasil Perbandingan Persamaan Regresi Linear Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding 24](#_Toc137166158)

# DAFTAR LAMPIRAN

[Lampiran 1 Perhitungan Kimia 28](#_Toc137165052)

[Lampiran 2 Perhitungan % inhibisi 31](#_Toc137165053)

[Lampiran 3 Hasil Rotary 36](#_Toc137165054)

[Lampiran 4 Surat pemakaian laboratorium untuk melakukan penelitian 37](#_Toc137165055)

[Lampiran 5 Kartu laporan pertemuan bimbingan KTI 38](#_Toc137165056)

[Lampiran 6 Laporan data pengujian pada alat spektrofotometer UV-Vis 39](#_Toc137165057)

[Lampiran 7 Laporan dokumentasi kegiatan penelitian 40](#_Toc137165058)

[Lampiran 8 Laporan bukti pengesahan EC 40](#_Toc137165059)

# BAB I

# PENDAHULUAN

* 1. **Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara iklim tropis dengan keanekaragaman hayati terbanyak kedua didunia sesudah Brazil. Ditemukan ada sekitar 25.000 - 30.000 macam flora di Indonesia, didapati 80% jenis tumbuhan dunia dan 90% jenis tumbuhan (Cahyani, 2017). Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui khasiatnya dan digunakan sebagai sumber senyawa penuntun untuk sintesis senyawa obat baru (Cahyani, 2017).

Daun insulin memiliki banyak manfaat seperti: mengobati diabetes, men cegah sembelit, mengurangi resiko kanker usus besar, menurunkan kolestrol dan tekanan darah tinggi, serta berpotensi sebagai agen antimikroba dan antioksidan (Thitonia, 2022). Akarnya enak dan manis, Penduduk asli lawasan pegunungan Ades sering menjemurnya di bawah sinar matahari agar rasanya lebih manis. Mereka mengkonsumsinya dan mencampurnya dengan buah-buahan lain dalam salad dan bentuk lainnya. Misalnya akar insulin telah menjadi obat tradisional masyarakat Peru untuk mengobati hiperglikemia, gangguan ginjal dan peremajaan kulit. Di Brazil daun dan buah insulin dicampur dengan teh (Thitonia, 2022).

Berdasarkan Penelitian Ramadhani et al., 2020 menyatakan bahwa skrining fitokimia ekstrak daun insulin menunjukkan bahwa daun insulin mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik. Ekstrak terpurifikasi daun insulin diidentifikasi dengan KLT diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Kadar flavonoid total pada sampel ekstrak terpurifikasi daun insulin hasil maserasi adalah 90,58 mgQE/gram ekstrak. Dan kadar fenolik total pada sampel ekstrak hasil sebesar 67,41 mgGAE/gram ekstrak.

Berdasarkan penelitian (Pahlawan et al, 2016) Kandungan senyawa aktif seperti fructooligosakarida, fenol, chlorogenic, dan flavonoid dari daun insulin (Smallanthus sonchifolius) yang mampu menurunkan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, daun insulin atau daun yacon dapat digunakan sebagai obat alternatif dalam pengobatan antidiabetes karena berperan dalam penurunan kadar glukosa darah.

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang bersifat sangat reaktif dan dapat mengakibatkan kerusakan sel atau kematian sel (penuaan) (Lung et al., 2018). Radikal bebas berasal dari asap rokok, gorengan, terpapar sinar matahari berlebihan, asap kendaraan bermotor, obat-obatan tertentu, racun dan polusi udara (Aisyah, 2020). Kelebihan radikal bebas dapat mengakibatkan bermacam-macam penyakit degeneratif seperti kanker dan kardiovaskular (jantung dan pembuluh darah). Penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dihambat atau dicegah dengan senyawa antioksidan. Oleh karena itu, tubuh sangat memerlukan zat penting seperti antioksidan untuk menangkap radikal bebas sehingga tidak dapat menimbulkan penyakit lain (Putri, 2019). Untuk itu, didalam tubuh kita sangat memerlukan antioksidan.

Antioksidan adalah zat alami atau buatan manusia yang dapat mencegah atau menunda beberapa jenis kerusakan sel akibat proses oksidasi oleh oksidan. Oksidan adalah radikal bebas yang ada dilingkungan, tetapi juga diproduksi secara alami dari dalam tubuh. Berdasarkan sumbernya ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Parwata, 2016).

Antioksidan alami biasanya lebih banyak diminati oleh masyarakat, karena tingkat keamanan yang lebih baik dan manfaatnya luas di bidang makanan, termasuk buah-buahan, sayuran dan ekstrak tanaman. Beberapa antioksidan diproduksi oleh tubuh kita, di samping itu zat ini juga bisa di peroleh dari makanan. Konsumsi makanan tinggi merupakan cara alami memenuhi asupan antioksidan bagi tubuh. Antioksidan sangat berperan penting untuk melindungi tubuh dari efek radikal bebas yang bisa menimbulkan berbagai macam penyakit (Parwata, 2016).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa 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 (Sitotoksik et al., 2015).

Metode ekstraksi yang digunakan salah satunya adalah maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian simplisia dengan metode perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada tempertaur ruangan (suhu kamar). Penelitian ini mengunakan metode ekstraksi maserasi karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan

Metode DPPH atau 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil adalah metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan berbagai tumbuhan obat. Perendaman radikal DPPH didasarkan pada pengurangan radikal DPPH berwarna oleh penghambat radikal. Metode ini melibatkan pengukuran reduksi DPPH dan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke dalam larutan reaktivitas DPPH. Aktivitas ini dinyatakan sebagai konsentrasi efektif, IC50 atau sebagai konsentrasi penghambatan IC50 (Ani et al., 2021).

Berdasarkan uraian diatas, mengingat potensi yang begitu besar dari daun insulin *(Thitonia diversifolia).* Untuk itu penelitian ini dilakukan agar mengetahui efek antioksidan dari ekstrak etanol daun insulin *(Thitonia diversifolia)* dengan metode 1,1-Diphenyl-2-picylhidrazyl (DPPH).

* 1. **Rumusan Masalah**

Bagaimanakah efek antioksidan dari ekstrak etanol daun insulin *(Thitonia diversifolia)* yang diukur dengan menggunakan metode 1,1*-Dipenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan pada konsentrasi berapa ekstrak etanol daun insulin memiliki efek sebagai antioksidan.

**1.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun insulin *(Thitonia diversifolia*) yang berpotensi sebagi antioksidan dan Untuk mengetahui konsentrasi tertentu ekstrak daun insulin *(Thitonia diversifolia)* yang memiliki efektivitas sebagai antioksidan.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai sumber informasi ilmiah dalam mengidentifikasi daun insulin *(Thitonia diversifolia*).
2. Menambah wawasan peneliti dalam mengembangkan ilmu pengetahuan dan masyarakat.
3. Sebagai bahan masukan dan informasi kepada pembaca tentang penelitian daun insulin.

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Daun Insulin (Thitonia diversifolia)

Tumbuhan Insulin merupakan tumbuhan perdu tegak yang dapat mencapai tinggi 9 meter, bertunas, dan merayap dalam tanah. Umumnya tumbuhan ini tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai, dan selokan. Tumbuhan insulin ini tumbuh dengan mudah ditempat dengan ketinggian 5-1500 meter di atas permukaan laut, juga merupakan tumbuhan tahunan yang menyukai tempat-tempat terang dan tumbuh di tempat yang terkena sinar matahari langsung. Tumbuhan Insulin atau dikenal juga dengan nama Kembang Bulan (Tithonia diversifolia) umumnya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, antivirus, anti malaria, liver, dan radang tenggorokan, serta penggunaannya sebagai bahan pestisida. Daun Insulin mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, serta polifenol (Thitonia, 2022) 

Gambar 2. 1 Tumbuhan Daun Insulin

### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Menurut Thitonia, 2022 Klasifikasi tumbuhan insulin adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Ordo : *Asterales*

Suku : *Asteraceae*

Genus : *Tithonia*

Spesies : *Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Graya*

### 2.1.2 Nama Lain

Nama umum : Kembang bulan, Kipait, Paitan

Jawa : Rondo noleh, Rondosemoyo, Harsaga

Nama asing : Mexican Sunflower, Tree Marigold ( Inggris) (Thitonia, 2022)

### 2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan insulin *(Tithonia diversifolia*) ini merupakan tumbuhan perdu tegak yang dapat mencapai tinggi 9 meter, bertunas dan merayap dalam malam. Umumnya tumbuhan ini tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai dan selokan. Tumbuhan insulin ini tumbuh dengan mudah ditempat dengan ketinggian 5 - 1500 meter di atas permukaan laut, juga merupakan tumbuhan tahunan yang menyukai tempat-tempat terang dan tumbuh di tempat yang terkena sinar matahari langsung (Thitonia, 2022).

Daun tunggal dan berseling, dengan panjang 26 - 32 cm dan lebar 15 - 25 cm. Bagian ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun bergerigi, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau. Bunga merupakan bunga majemuk, di ujung ranting, tangkai bulat, kelopak bentuk tabung. Perbungan muncul di ketiak daun atau ujung percabangan, kepala sari berwarna hitam dan di bagian atasnya berwarna kuning. Buah kotak berbiji bulat dan keras. Jika masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat. Bijinya bulat, keras, dan berwarna coklat. Akarnya berupa akar tunggang berwarna putih kotor (Ryan et al., 2013).

### 2.1.4 Kandungan dan Manfaat

Daun Insulin atau dikenal juga dengan nama Kembang Bulan *(Tithonia diversifolia)* biasanya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari manfaat daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, antivirus, anti malaria, liver, dan radang tenggorokan, serta penggunaanya sebagai bahan pestisida. Pada daun Insulin terkandung beberapa senyawa seperti alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, serta polifenol (Thitonia, 2022).

## 2.2 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga, dan kecuali dinyatakan lain, berupa yang telah dikeringkan. Simplisia terbagi menjadi tiga komponen, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Ani et al., 2021).

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan, bagian hewan atau zat-zat yang berguna dihasilkan hewan yang belum berupa bahan kimia murni, contonya minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan (Mineral) adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhanan dan belum berupa zat kimia (Ani et al., 2021).

### 2.2.1 Pembuatan simplisia

Tahapan dalam pembuatan simplisia ada 7 yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (TEMA, 2018).

a. Pengumpulan bahan baku

Waktu panen berkaitan dengan pembentukan senyawa aktif dalam tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang baik adalah saat tanaman mengandung senyawa aktif yang besar. Senyawa aktif tanaman akan terbentuk dalam bagian tanaman atau pada waktu tertentu. Kadar senyawa aktif pada bagian tanaman tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman saat panen, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemisahan atau pemilahan kotoran atau benda asing dari tanaman segar. Misalnya pada bagian akar tanaman terdapat bahan-bahan asing seperti tanah, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam- macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan bagian tanaman dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk membersihkan tanaman yang akan dibuat simplisia seperti tanah atau kotoran lainnya yang melekat pada simplisia. Proses pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti air dari mata air, air sumur atau air PAM. Tanaman yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian harus dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin. Proses sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

d. Perajangan

Tujuan dalam perajangan bahan simplisia adalah untuk mempermudah dalam proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum bahan simplisia dirajang, sebaiknya jangan langsung dirajang tetapi dijemur terlebih dahulu selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Apabila irisan terlalu tipis dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang dari tanaman.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi jumlah kadar air dalam tanaman untuk mencegah terjadinya kerusakan, penurunan mutu simplisia, dan agar simplisia dapat disimpan dalam waktu lama. Pengeringan simplisia dapat menggunakan alat pengering simplisia. Hal yang dapat diperhatikan saat proses pengeringan seperti suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Sebelum simplisia dilakukan penyimpanan dan pemeriksaan mutu maka simplisia harus dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda - benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan zat pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses sortasi kering dapat dilakukan dengan atau secara mekanik.

g. Penyimpanan

Tujuan dari penyimpanan adalah untuk menghindari kerusakan simplisia karena ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan simplisia rusak seperti cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Penyebab utama terjadinya kerusakan pada simplisia disebabkan oleh air dan kelembaban. Kerusakan simplisia dapat menurunkan mutu sehingga tidak sesuai dengan syarat simplisia. Dalam penyimpanan harus diperhatikan dalam hal yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya.

h. Pemeriksaan mutu

Simplisia yang diperoleh harus dalam bentuk simplisia murni dan memenuhi persyaratan yang ada dibuku farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia ataupun Materia Medika Indonesia edisi terakhir. Simplisia dikatakan bermutu jika persyaratannya masuk dalam buku - buku tersebut. Proses pemeriksaan mutu meliputi cara organoleptik, makroskopik dan atau cara kimia.

## 2.3 Ekstrak dan Ekstraksi

Esktrak merupakan sediaan pekat yang dihasilkan dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati dan simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya semua dan hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diprlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Sitotoksik et al., 2015).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Lapis et al., 2017).

### 2.3.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Penambahan ulang pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi (Syarif et al., 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyaringan simplisia menggunakan alat percolator dengan pelarut yang selalu baru samapi terjadi penyaringan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahapan maserat antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Syarif et al., 2013).

**2.3.2 Cara Panas**

a. Refkus

Refluks adalah proses penyaringan simplisia pada temperatur titik didihnya menggunakan alat dengan pendingin, baik dalam waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu (Cahyani, 2017).

b. Digesti

Digesti adalah proses pengadukan dan ekstraksi secara terus menerus pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, umumnya pada suhu 40-50°C (Cahyani, 2017).

c. Sokletasi

Sokletasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut baru, dilakukan dengan menggunakan alat khusus (soklet), pelarut akan mengembun dari labu ke pendingin kemudian jatuh membasahi sampel (Cahyani, 2017)

d. Infudasi

Infudasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit (Cahyani, 2017).

e. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan proses ektraksi dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 30 menit (Cahyani, 2017).

## 2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa dengan struktur molekul yang dapat mendonorkan elektron pada molekul radikal bebas dan memutus rantai reaksi radikal bebas. Antioksidan juga dapat diartikan sebagai bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat atau bahan yang dapat teroksidasi, walaupun memiliki jumlah yang sedikit dalam makanan atau tubuh jika dibandingkan dengan substrat yang akan teroksidasi. Antioksidan yang tergolong dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid, flafanoid memiliki kemampuan untuk mereduksi molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas (Puspitasari et al., 2016)

Antioksidan adalah senyawa yang pada konsentrasi rendah dapat secara signifikan menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi berantai. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas. Antioksidan dapat menyumbangkan elektron ke molekul radikal bebas, yang menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan adalah p-karoten, likopen, vitamin C, vitamin E, (Syarif et al., 2013).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai stabilitas atom atau molekul, radikal bebas bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk membentuk pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus-menerus di dalam tubuh dan jika tidak dikendalikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit jantung, penuaan dini dan penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu substansi penting, yaitu antiksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Rustiah et al., 2018)

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami (antioksidan yang berasal dari bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang berasal dari sintesis reaksi kimia). Antioksidan kini dibagi menjadi tiga bagian menurut mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier (Cahyani, 2017)

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah propil galat, tokoferol alami maupun sintetik dan alkil galat (Cahyani, 2017).

Antioksidan sekunder merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi logam-logam seperti: Fe, Pb, Cu, dan Mn. Antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan (Cahyani, 2017).

Antioksidan tersier seperti enzim perbaikan DNA dan reduktase metionin sulfoksida membantu memperbaiki biomolekul yang rusak akibat radikal bebas. Kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas ditandai dengan lesi beruntai tunggal dan ganda, serta kelompok dasar dan non-dasar. Perbaikan kerusakan basa DNA yang diinduksi oleh spesies oksigen reaktif terjadi melalui perbaikan eksisi basa.Umumnya eksisi basa terjadi dengan menghancurkan basa yang rusak oleh DNA glikosilase (Cahyani, 2017).

## 2.5 Uji DPPH ( 1,1-dipenil-2-pikrihidrazil)

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrihydrazyl*) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak alami. Interaksi antioksidan dengan DPPH melalui transfer elektron atau radikal hidrogen DPPH menetralkan radikal bebas DPPH. Prinsip uji DPPH adalah warna yang mengukur kapasitas antioksidan yang dicapai oleh radikal DPPH dengan mengamati langsung absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer. Radikal nitrogen organik pekat DPPH merupakan radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang berubah menjadi kuning ketika antioksidan mereduksinya menjadi bentuk non-radikal (Lung et al., 2018).

Metode DPPH merupakan metode yang berulang kali digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan berbagai tanaman obat.Eliminasi radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi radikal bebas bewarna oleh inhibitor radikal. Menurut prinsip ini, reduksi absorpsi DPPH diukur pada panjang gelombang maksimumnya yang sebanding dengan konsentrasi inhibitor radikal yang ditambahkan pada kelarutan reagen DPPH. Aktivitas ini dinyatakan sebagai konsentrasi efektif, sebagai IC50 atau konsentrasi penghambatan, IC50(Amelia, 2013).

Nilai IC50 adalah angka yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi (Y=AX+B) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % perendaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 µg/ml, kuat untuk IC50 bernilai 50-100 µg/ml, sedang jika IC50 bernilai 100-150 µg/ml dan lemah jika IC50 bernilai 151-200 µg/ml (Putri dkk, 2015).

Parameter untuk menentukan penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dinyatakan dengan parameter IC50, yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan 50% penangkapan radikal bebas. Kelas aktivitas antioksidan yang kuat dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2. 1 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan

**No Kategori Konsentrasi (µg/ml)**

**1.** Sangat kuat <50

**2.** Kuat 50-100

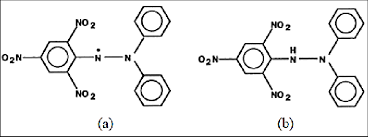
**3.** Sedang 101—150

**4.** Lemah 151-200

## 2.6 Penentuan Efek Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu pengujian yang dapat dilakukan untuk mengetahui potensi menangkap senyawa radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan berbagai senyawa atau ekstrak alami (Gurav et al., 2007).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen untuk membentuk molekul diamagenetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik melalui transfer elektron maupun radikal hidrogen DPPH menetralisir radikal bebas DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning muda dan absorbansi pada 516 nm hilang ketika semua elektron radikal bebas DPPH dipasangkan. Perubahan ini dapat diukur dengan jumlah elktron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH karena adanya zat pereduksi.Zat tersebut memiliki sifat antioksidan jika IC50 kurang dari 200 ppm. Jika nilai lC50 yang diperoleh antara 200 dan 1000 ppm, zat tersebut kurang aktif tetapi masih berpotensi sebagai antioksidan (Molyneux, 2014).

****

Gambar 2. 2 Penentuan struktur DPPH dari radikal bebas (a) menjadi bentuk non radikalnya (b) (Sumber:Leliqia et al.,2020)

Durasi metode pengukuran DPPH adalah 60 menit menurut beberapa rekomendasi, namun waktu yang digunakan pada bebrapa penelitian sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, dan 60 menit. Waktu reaksi yang tepat sebenarnya adalah pada saat reaksi telah mencapai kesetimbangan. Laju reaksi dipengaruhi oleh jenis aktivitas antioksidan dalam sampel. Metode ini biasanya digunakan untuk mengukur hasil reaksi atau pembentukan warna . Kestabilan komposisi produk diketahui dengan memntau penyerapan dari sat reaksi sampai tercapai penyerapan yang stabil (Molyneux, 2014).

Panjang gelombang maksimu(λmax) yang digunakan dalam pengukuran uji sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur, panjang gelombang maksimum DPPH adalah antara 516-520 nm. Dalam prakteknya hasil pengukuran yang memberikan puncak maksimum adalah panjang gelombang di sekitar panjang gelombang tersebut. Absorbansi absolut tidak penting karena panjang gelombang dapat diatur ke absorbansi maksimum tergantung pada instrumen yang digunakan. Di sekitar panjang gelombang maksimum, kurva kepunahan menjadi linier mematuhi hukum Beer-Lambert (Molyneux, 2014) .

## 2.7 Uji Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri serapan adalah teknik yang mengukur penyerapanradiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap oleh zat. Spektrofotometri yang sering digunakan untuk mengukur serapan suatu larutanatau zat yang diteliti adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak (visible light) dengan panjang gelombang 400-800 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu interaksi sinar ultraviolet atau tampak dengan molekul sampel. Energi cahaya akan mengeksitasi elektron terluar molekul ke orbital lebih tinggi (Cahyani, 2017).

Langkah-langkah dalam penggunaan spektrofotometer ialah:

a. Pemilihan pelarut

Pelarut yang digunakan tidak mengandung sistem terkonjugasi dalam struktur molekulnya atau tidak bewarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan memiliki kemurnian yang tinggi (Cahyani, 2017)

b. Pemilihan panjang geleombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimum, dibuat kurva hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang larutan standar pada konsentrasi tertentu (Cahyani, 2017).

c. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan natara absorbansi dengan konsentrasi. Jika kurva kalibrasi berupa garis lurus maka hukum Lambert-Beer terpenuhi (Cahyani, 2017).

d. Pembuatan absorbansi sampel atau cuplikan

Pembuatan absorbansi spektrofotometri paling baik bila 0,2 - 0,8. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Cahyani, 2017).

e. Waktu operasional (Operating Time)

Tujuannnya adalah untuk menemukan waktu pengukuran yang stabil. Pada awal reaksi, absorbansi senyawa berwarna ini meningkat selama periode waktu tertentu hingga tercapai absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran maka intensitas warna akibat penurunan daya serap (Cahyani, 2017).

## 2.8 kerangka konsep

**Variabel Bebas Variabel Terikat Parameter**

Ektrak Etanol Daun Insulin Konsentrasi 50 ppm

Ektrak Etanol Daun Insulin Konsentrasi 100 ppm

Inhibitor concentration 50%

( IC50)

Antioksidan

Ektrak Etanol Daun Insulin Konsentrasi 150 ppm

Ektrak Etanol Daun Insulin Konsentrasi 200 ppm

Ektrak Etanol Daun Insulin Konsentrasi 250 ppm

Gambar 2. 3 Kerangka Konsep

## 2.9 Defenisi Operasional

1. Ekstrak etanol daun insulin merupakan daun insulin yang sudah dipetik dan dicuci bersih lalu dibuat simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi memperoleh Ekstrak etanol daun insulin.
2. *Inhibitor concentrasi* 50% (IC50) merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%.

## 2.10 Hipotesis

Ekstrak etanol daun insulin memiliki efek Antioksidan pada konsentrasi tertentu yang diukur dengan metode DPPH dengan IC50 <50%.

# BAB III

# METODE PENELITIAN

## 3.1 Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

### 3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental, melalui tahapan-tahapan yaitu pengumpulan bahan tanaman, pengolahan bahan tanaman, pembuatan simplisia, dan pembuatan ekstrak etanol dengan perlakuan

menguji efek antioksidan ekstrak etanol daun insulin *(Thitonia diversifolia)* dengan metode DPPH.

### 3.1.2 Desain Penelitian

Dengan desain penelitian Posttest Only Control Group karena pengukuran antioksidan setelah pembuatan larutan uji yang berbeda-beda konsentrasi pada ekstrak etanol daun insulin ( *Thitonia difersifolia*).

## 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

### 3.2.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Kimia Dasar Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan Jln. Airlangga No. 20 Medan.

### 3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan selama enam bulan dari bulan Januari sampai bulan Juni 2023.

## 3.3 Alat dan Bahan yang digunakan

### 3.3.1 Alat

Neraca analitik, cawan penguap, penangas air, labu tentukur 50 ml, labu tentukur 100 ml, beaker glass 1000 ml, gelas ukur 1000 ml, batang pengaduk, kain penyaring, corong, pipet tetes, spatel logam, spektrofotometer Viseble.

### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin, etanol 70% ,etanol p.a, vitamin C, DPPH.

## 3.4 Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel tanpa mempertimbangkan tempat tumbuh dan letak geografisnya.

## 3.5 Pembuatan Simplisia

Petik daun Insulin lalu cuci bersih kemudian timbang sejumlah daun Insulin yang basah misalnya sebanyak 2 kg. Daun Insulin dirajang-rajang agar menjadi lebih kecil lagi agar mempercepat pengeringan lalu keringkan tanpa pengaruh cahaya matahari langsung, setelah itu pisahkan daun dari bagian tumbuhan lain yang tidak diperlukan. Setelah itu daun Insulin kering dihaluskan dengan blender sedikit demi sedikit. Daun Insulin yang telah di blender diayak dan hasil ayakan ada serbuk halus dan serbuk kasar. Kemudian serbuk kasar diblender lagi hingga menghasilkan serbuk halus. Setelah itu serbuk halusnya di timbang.

## 3.6 Perhitungan Volume Etanol 70%

Penelitian ini ekstrak dibuat menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I Tahun 2013 yaitu dengan cara maserasi berulang (remaserasi) menggunakan cairan penyari etanol 70%.

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%.

Bobot jenis alkohol 70% = 0,884 (FI ed IV Hal 1154)

Serbuk simplisia yang di timbang 10 bagian misalkan berat di dapat dari simplisia yang telah dikeringkan adalah 200 gram. Berat untuk 100 bagian simplisia adalah

Maka cairan penyari yang digunakan untuk 100 bagian simplisia adalah

Cairan penyari untuk 75 bagian adalah

Cairan penyari untuk 25 bagian adalah

## 3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Insulin Secara Maserasi

1. Masukkan 10 bagian serbuk simplisia daun Insulin yang sudah di blender misalnya 200 g ke dalam beaker glass kemudian tuangi 75 cairan penyari yaitu sebanyak 1.697ml etanol 70%.
2. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk.
3. Tutup beaker glass dan didiamkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk (minimal diaduk sebanyak 3 kali).
4. Setelah 5 hari campuran tersebut diserkai (saring) lalu diperas. Lalu cuci ampasnya dengan sisa cairan penyari 25 bagian yaitu sebanyak 566 ml etanol 70%.
5. Kemudian maseratnya dibiarkan 2 hari dalam wadah tertutup rapat terlindung dari cahaya matahari.
6. Lalu difiltrat, filtrat tersebut dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada sahu 40°C sampai etanol menguap.

Ekstrak etanol yang diperoleh dihitung % rendemen menggunakan rumus :

% Rendemen = x 100%

= x 100 % = 17,01 %

## 3.8 Prosedur Kerja

### 3.8.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,5 Mm

1. Larutan ini dibuat dengan menimbang 9,85 mg serbuk DPPH, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml
2. Lalu ditambahkan etanol p.a sebagian, kemudian dikocok untuk melarutkan serbuk DPPH
3. Selanjutnya ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

Banyaknya DPPH yang ditimbang dengan menggunakan rumus:

Banyaknya DPPH yang ditimbang:

**m = X**

0,5 mM = X

= 9,85 mg

Jadi, ditimbang 9,85 mg DPPH dan dilarutkan dengan etanol p.a serta dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

### 3.8.2 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Insulin

1. Dibuat larutan induk 1000µg/ml dengan menimbang 100mg ekstrak larutkan dalam 100 ml etanol.
2. Dibuat variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm.
3. Ditambahakan kedalam 2 ml dpph 0,5 mM, campurkan selanjutnya dikocok dan di taruh ditempat gelap pada suhu kamar selama 30 menit.
4. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk larutan blanko (larutan DPPH yang tidak mengandung bahan uji). Larutan blanko terdiri dari 2,0 ml DPPH 0,5 mM dan 1 ml etanol p.a.

### 3.8.3 Pembuatan Larutan Pembanding

Larutan Vitamin C ditimbang sebanyak 100 mg. Kemudian vitamin C p.a dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 100 mL, buat larutan stok dengan konsentrasi yang sama sebelumnya yaitu konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dengan ditambahkan masing-masing larutan dengan etanol p.a mencapai tanda batas (100 mL ).

## 3.9 Pengujian Metode DPPH Dengan Spektrofotometer Vis

### 3.9.1 Optimasi Panjang Gelombang DPPH

1. 1 ml larutan DPPH dimasukkan kedalam kuvet
2. Ditentukan lamda optimumnya, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

### 3.9.2 Pengujian Vitamin C

1. 1 ml masing-masing konsentrasi larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet
2. Dihomogenkan dengan cara dikocok
3. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimal.

### 3.9.3 Pengujian Ekstrak

1. 1 ml masing-masing konsentrasi larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet
2. Dihomogenkan dengan cara dikocok
3. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjnag gelombang optimal.

Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoeh harga IC50 yaitu konsentrasi bahan uji yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal DPPH selama 15 menit (operating time).

Nilai IC50 merupakan bilangan yang menunjukan konsentrasi sampel uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berati peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (µg/mL) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 µg/mL, kuat untuk IC50 bernilai 50-100 µg/mL ( Mardawati, dkk, 2008). Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

% Perendaman DPPH = x 100%

Persentasi inhibisi (IC50) terhadap radikal bebas DPPH dari masin-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

% inhibisi = x 100%

Keterangan :

Abs blanko = serapan radikal DPPH 0,5 mM

Abssampl = serapan samperl terhadap radikal DPPH 0,5 mM

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linear menggunakan persamaan y = A +Bx, dimana x adalah konsentrasi (µg/ml) dan y adalah presentasi inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan inhibitor concentration 50% atau IC50 yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal DPPH sebanyak 50%, nilai IC50 didapatkan dari nilai x setalah mengganti y dengan 50.

**Skema Kerja Penelitian**

Daun Insulin

Pengambilan, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan

Serbuk Simplisia Daun Insulin

Ditimbang, diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%

Ekstrak Etanol Daun Insulin

Diukur absorbansi perendaman radikal bebas DPPH meng gunakan spektrofotometer Vis

Efektivitas Antioksidan

# BAB IV

# HASIL DAN PEMBAHASAN

# 4.1 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Insulin

Hasil ekstraksi daun insulin dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Insulin

Bobot Simplisia Bobot Ekstrak Rendemen Karakteristik Ekstrak

Daun Insulin Etanol Daun Bentuk Warna Bau

Insulin

200 gram 34,027 gram 17,01% Kental Hijau Khas

# 4.2 Hasil Analisis Efektivitas Antioksidan

## 4.2.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 0,5 mM dalam etanol p.a dengan menggunakan spektrofotometer Visibel. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa larutan DPPH dalam entanol menghasilkan serapan maksimum sebesar 0, 772 pada panjang gelombang 516 nm.

## 4.2.2 Hasil Penentuan Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Insulin

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sa ngat kuat jika nilai IC50 kurang 50 µg/mL, kuat untuk IC50 bernilai 50-100 µg/mL sedang jika IC50 bernilai 100-150 µg/ml dan lemah jika IC50 bernilai 151-200µg/mL.

Persentasi inhibisi (IC50) terhadap radikal bebas DPPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

% inhibisi =

**Tabel 4.2 Hasil Absorbansi Ekstrak Etanol Daun Insulin**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Larutan | Konsentrasi | Absorbansi | % inhibisi | Nilai IC50 |
| Pembanding | **(**ppm) | l ll lll | l ll lll | y = ax +b |
| DPPH | 0 | 0,772 0,772 0,772 | 0 0 0 |  |
|  | 0 | 0 0 0 | 0 0 0 |  |
|  | 50 | 0,425 0,425 0,425 | 44,99 44,99 44,99 | y = 0,1436x + 37,327 |
| Vitamin C | 100 | 0,370 0,370 0,370 | 52,07 52,07 52,07 | R2 **=** 0,9855 |
|  | 150 | 0,335 0,335 0,335 | 56,60 56,60 56,60 |  |
|  | 200 | 0,251 0,251 0,251 | 67,48 67,48 67,48 |  |
|  | 250 | 0,207 0,207 0,207 | 73,18 73,18 73,18 |  |
|  | 0 | 0 0 0 | 0 0 0 |  |
|  | 50 | 0,574 0,574 0,574 | 25,64 25,64 25,64 |  |
|  | 100 | 0,478 0,478 0,478 | 38,08 38,08 38,08 | y = 0,2551x + 13,074 |
| EEDI | 150 | 0,360 0,360 0,360 | 53,36 53,36 53,36 | R2 **=** 0,9952 |
|  | 200 | 0,291 0,291 0,291 | 62,30 62,30 2,30 |  |
|  | 250 | 0,175 0,175 0,175 | 77,33 77,33 77,33 |  |

Pada hasil analisis efektivitas antioksidan terlihat adanya penurunan nilai absorbansi pada masing-masing konsentrasi vitamin C dan ekstrak etanol daun insulin, dapat dilihat pada grafik 4.1

Gambar 4.1 Grafik Hasil Perbandingan Nilai Absorbansi Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding

Sebagai baku pembanding digunakan vitamin C direaksikan dengan DPPH diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 516 nm dan didapat nilai IC50 vitamin C adalah 88,08 ppm. Nilai IC50 > 50ppm menunjukkan kekuatan antioksidan kuat sehingga vitamin C termasuk antioksidan aktif.

Pada penelitian daun insulin direaksikan dengan DPPH diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 516 nm dan didapatkan nilai IC50 sebesar 144,7 ppm. Nilai IC50 > 50ppm - 200ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat kuat sehingga daun insulin termasuk antioksidan Sedang. Hal ini dapat dilihat dari grafik perbandingan nilai IC50 yang diperoleh dari larutan vitamin C dan larutan ekstrak daun insulin pada grafik 4.2

Gambar 4. 2 Grafik Hasil Perbandingan Nilai IC50 Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding

Aktivitas antioksidan menggunakan pereaksi DPPH *(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)* memberikan hasil berupa nilai IC50 yaitu kemampuan suatu zat mereduksi 50% radikal bebas dalam konsentrasi tertentu. Semakin kecil nilai yang diperoleh semakin baik kemampuan antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari persamaan regresi linear dan hasil analisis IC50 yang diperoleh dari larutan vitamin C dan larutan ekstrak daun insulin pada grafik 4.3

Gambar 4.3 Grafik Hasil Perbandingan Persamaan Regresi Linear Ekstrak Etanol Daun Insulin Dengan Vitamin C Sebagai Pembanding

**Tabel 4.3 Hasil Perhitungan Regresi Linier**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Vitamin C | y = ax + b | 88,08 |
| EEDI | y = ax + b | 144,7 |

Aktivitas antioksidan menggunakan preaksi DPPH *(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)* memberikan hasil berupa nilai IC50 yaitu kemampuan suatu zat mereduksi 50 % radikal bebas dalam konsentrasi tertenu. Semakin kecil nilai yang diperoleh semakin baik hasil kemampuan antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari persamaan regresi linear dan hasil analisis IC50 yang diperoleh dari larutan vitamin C dan larutan ekstrak daun insulin pada grafik 4.3.

# BAB V

# KESIMPULAN DAN SARAN

## 5.1 Kesimpulan

Efektivitas antioksidan yang di peroleh dari ekstrak etanol daun insulin *(Thitonia difersifolia)* yang diukur dengan metode DPPH *(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)* memiliki potensi sebagai antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 144,7 ppm dikategorikan kedalam antioksidan sedang dan pada konsentrasi 150 ppm.

## 5.2 Saran

* 1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas antioksidan dengan metode uji lainnya.
  2. Disarankan bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan pemeriksaan efektivitas antioksidan pada sampel yang sama konsentrasi yang paling efektif.

# DAFTAR PUSTAKA

Aisyah, S. J. (2020). Identifikasi Efek Protektif Bawang Putih Berupa Antioksidan terhadap Radikal Bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, *9*, 1051–1056.

Amelia, P. (2013). *Isolasi , elusidasi struktur dan uji aktivitas antioksidan senyawa kimia dari daun Garcinia benthami Pierre*. 2–3.

Ani, D. A., Santoso, J., & Riyanta, A. B. (2021). Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sirup Ekstrak Buah Maja ( Aegle marmelos Linn ) dengan metode Spektrofotometer UV-Vis. *Politeknik Tegal*, *9*.

Cahyani, A. i. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa ( Lannea Coromandelica ) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*.

Gurav, S. S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragkar, N., & Patil, A. (2007). Free radical scavenging activity of Polygala chinensis Linn. *Pharmacologyonline*, *2*, 245–253.

Insan, J., Indonesia, F., & Puspita, W. (2020). *Uji aktivAtivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Buasbuas (Premna serratifolia L.) Asal Kabupaten Melawi Provinsi Kalimantan Barat Dengan Metode DPPH*. *3*(2),

Lapis, K., Dan, T., & Warna, R. (2017). *Pengujian Aktivitas Antioksidan DariI Fraksi Heksan Daun Botto botto (Chromolaena odorata (L.) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Dan Reaksi Warna Dengan (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil ( DPPH )*.

Lung et al. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka*, *15*(1), 53–62.

Molyneux. (2014). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, *50*(June 2003), 211–219.

Pahlawan et al. (2016). The Effect of Insulin Leaves (Smallanthus sonchifolius) as Antidiabetic. *Jurnal Majority*, *5*(4), 133–137. Diakses 15 Juni 2022

Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, *April*, 1–54.

Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., & Mahar, J. (2016). *Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Srisak ( Annona muricata L .) Dan Kulit Manggis ( Garcinia mangostana L .) : Kajian Pustaka Antioxidant Activity Herbal Supplements of Soursop Leaf ( Annona muricata L .) and Pericarp of Mangosteen ( Garcinia man*. *4*(1), 283–290.

Putri, P. E. (2019). *Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih dan bawang putih tunggal bentuk segar dan fermentasi dengan metode DPPH.* *1*, 45–50.

Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (Tithonia diversifolia) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, *3*(1), 8–18.

Rustiah et al. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Kawista (Limonia Acidissima) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Indo. J. Chem. Res.*, *6*(1), 22–25.

Ryan, Cooper, & Tauer. (2013). Tinjauan tanaman daun insulin. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 12–26.

Sitotoksik, U., Biji, E., Salacca, S., Gaert, Z., Metode, M., Shrimp, B., Test, L., Purwanto, N., Rismawati, E., & Sadiyah, E. R. (2015). *Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak*. 616–622.

Syarif, U. I. N., Jakarta, H., Ikhlas, N. U. R., Kedokteran, F., Ilmu, D. A. N., & Farmasi, P. S. (2013). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi ( Ocimum americanum Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*.

TEMA. (2018). TINJAUAN PUSTAKA. *Journal of Materials Processing Technology*, *1*(1), 1–8.

Thitonia. (2022). Tithonia. *CABI Compendium*, *CABI Compe*(4), 101–106.

# LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Kimia

**A. Perhitungan pembuatan larutan DPPH 0,5 Mm**

Massa DPPH yang diperlukan untuk membuat larutan DPPH 0,5 Mm sebanyak 50 mL adalah sebagai berikut:

m =

0.5 mM = x

=9,85 mg

**B. Perhitungan pembuatan larutan induk Vitamin C dan ekstrak sampel 1000 ppm**

Massa (mg) = konsentrasi (ppm) X Volume (liter)

= 1000 ppm X 0.1 L

= 100 mg

**C.Perhitungan pengenceran vitamin c dan ekstrak sampel**

Larutan induk

250

ppm

200

ppm

150

ppm

100

ppm

50

ppm

Konsentrasi 50 ppm

V1 x C1 = V2 x C2

V1 x 1000 ppm = 100 ml x 50 ppm

V1 =

= 5 ml

Konsentrasi 100 ppm

V1 x C1 = V2 x C2

V1 x 1000 ppm = 100 ml x 100 ppm

V1 =

= 10 ml

Konsentrasi 150 ppm

V1 x C1 = V2 x C2

V1 x 1000 ppm = 100 ml x 150 ppm

V1 =

= 15 ml

Konsentrasi 200 ppm

V1 x C1 = V2 x C2

V1 x 1000 ppm = 100 ml x 200 ppm

V1 =

= 20ml

Konsentrasi 250 ppm

V1 x C1 = V2 x C2

V1 x 1000 ppm = 100 ml x 250 ppm

V1 =

= 25 ml

Lampiran 2 Perhitungan % inhibisi

**1. Vitamin C 50 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 44,94 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 44,94 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 44,94 %

**2. Vitamin C 100 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 52,07 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 52,07 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 52,07 %

**3. Vitamin C 150 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 56,60%

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 56,60 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 56,60 %

**4. Vitamin C 200 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 67,48 %

* % inhibisi = x 100 %
* % inhibisi = 67,48 %
* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 67,48 %

**5. Vitamin C 250 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 73,18 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 73,18 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 73,18 %

**6. EEDI 50 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 25,64 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 25,64 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 25,64 %

**7. EEDI 100 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 38,08 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 38,08

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 38,08

**8. EEDI 150 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 53,36 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 53,36 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 53,36 %

**9. EEDI 200 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 62,30 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 62,30 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 62,30 %

**10 EEDI 250 ppm**

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 77,33 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 77,33 %

* % inhibisi = x 100 %

% inhibisi = 77,33 %

**Contoh perhitungan persamaan regresi dan nilai IC50**

Tabel IC50 dari Ekstrak Daun Insulin

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **X** | **Y** | **XY** | **X2** |
| 50 | 25,64 | 1.282 | 2.500 |
| 100 | 38,08 | 3.808 | 10.000 |
| 150 | 53,36 | 8.004 | 22.500 |
| 200 | 62,30 | 12.460 | 40.000 |
| 250 | 77,33 | 19.332 | 62.500 |
| ∑X = 750 | ∑Y = 256,7 |  |  |
|  |  | ∑XY = 44.886 | ∑X2 = 137.500 |
| X͞ =150 | Y͞ = 51,342 |  |  |

Keterangan X = Konsentrasi (ppm)

Y = % Inhibisi

(∑XY) – (∑X) (∑Y) /n

a =

(∑X2) – (∑X)2 /n

= = =0,255

b = y͞ - aX͞

= 51,342 – ( 0,255) (150)

= 13,092

Jadi, persamaan garis untuk mendapatkan nilai IC50 adalah

Nilai IC50

50 = ax + b

50 = 0,255 x + 13,092

X = 144,7 µg/ml

Tabel IC50 dari Vitamin C

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **X** | **Y** | **XY** | **X2** |
| 50 | 44,94 | 2.247 | 2.500 |
| 100 | 52,07 | 5.207 | 10.000 |
| 150 | 56,60 | 8.490 | 22.500 |
| 200 | 67,48 | 13.496 | 40.000 |
| 250 | 73,18 | 18.295 | 62.500 |
| ∑X=750 | ∑Y=294,27 |  |  |
|  |  | ∑XY = 47.735 | ∑X2 = 137.500 |
| x͞ = 150 | Y͞ =58,854 |  |  |

Keterangan X = Konsentrasi (ppm)

Y = % Inhibisi

(∑XY) – (∑X) (∑Y) /n

a =

(∑X2) – (∑X)2 /n

= = =0,143

b = y͞ - aX͞

= 51,342 – ( 0,255) (150)

= 13,092

Jadi, persamaan garis untuk mendapatkan nilai IC50 adalah

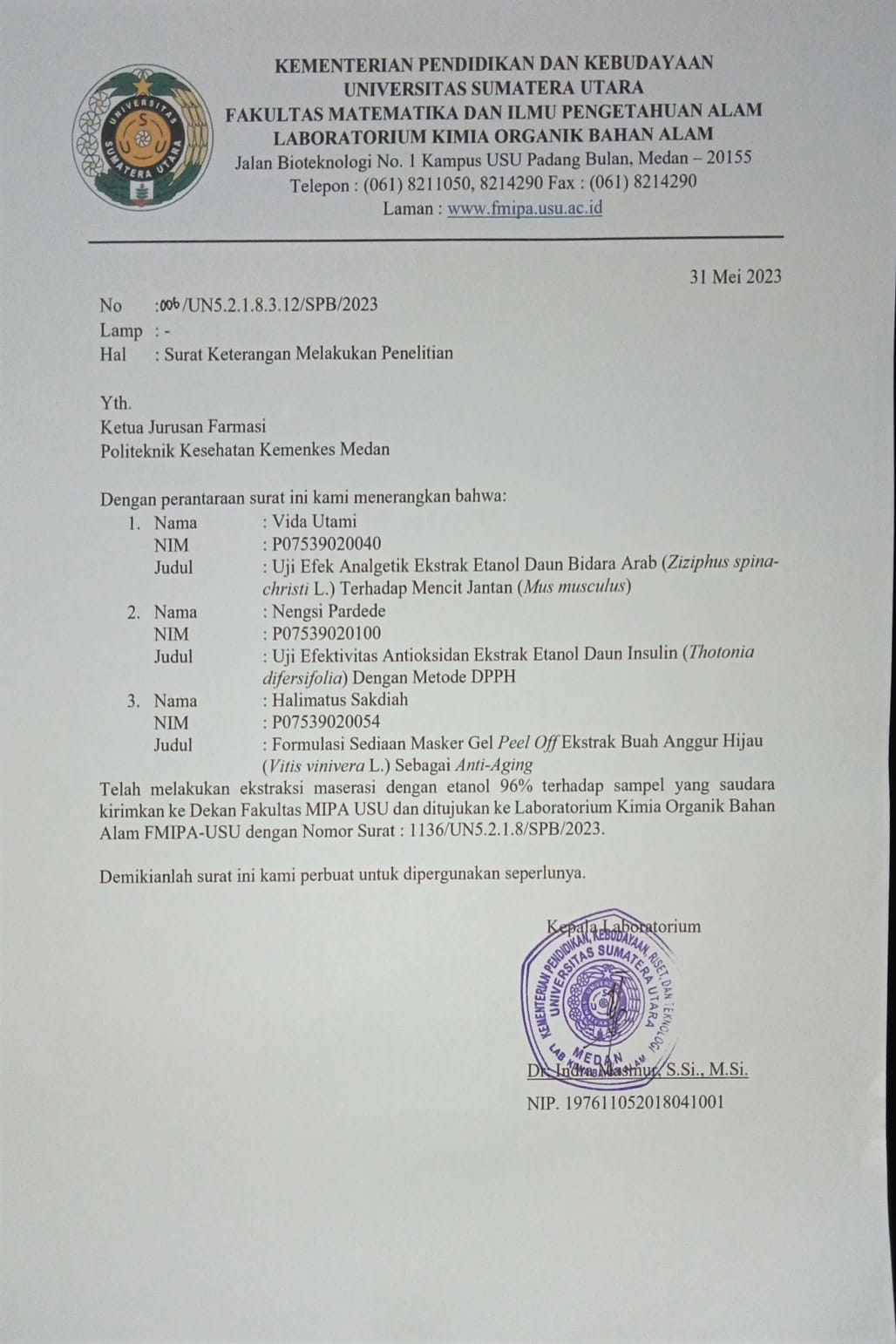
Nilai IC50

50 = ax + b

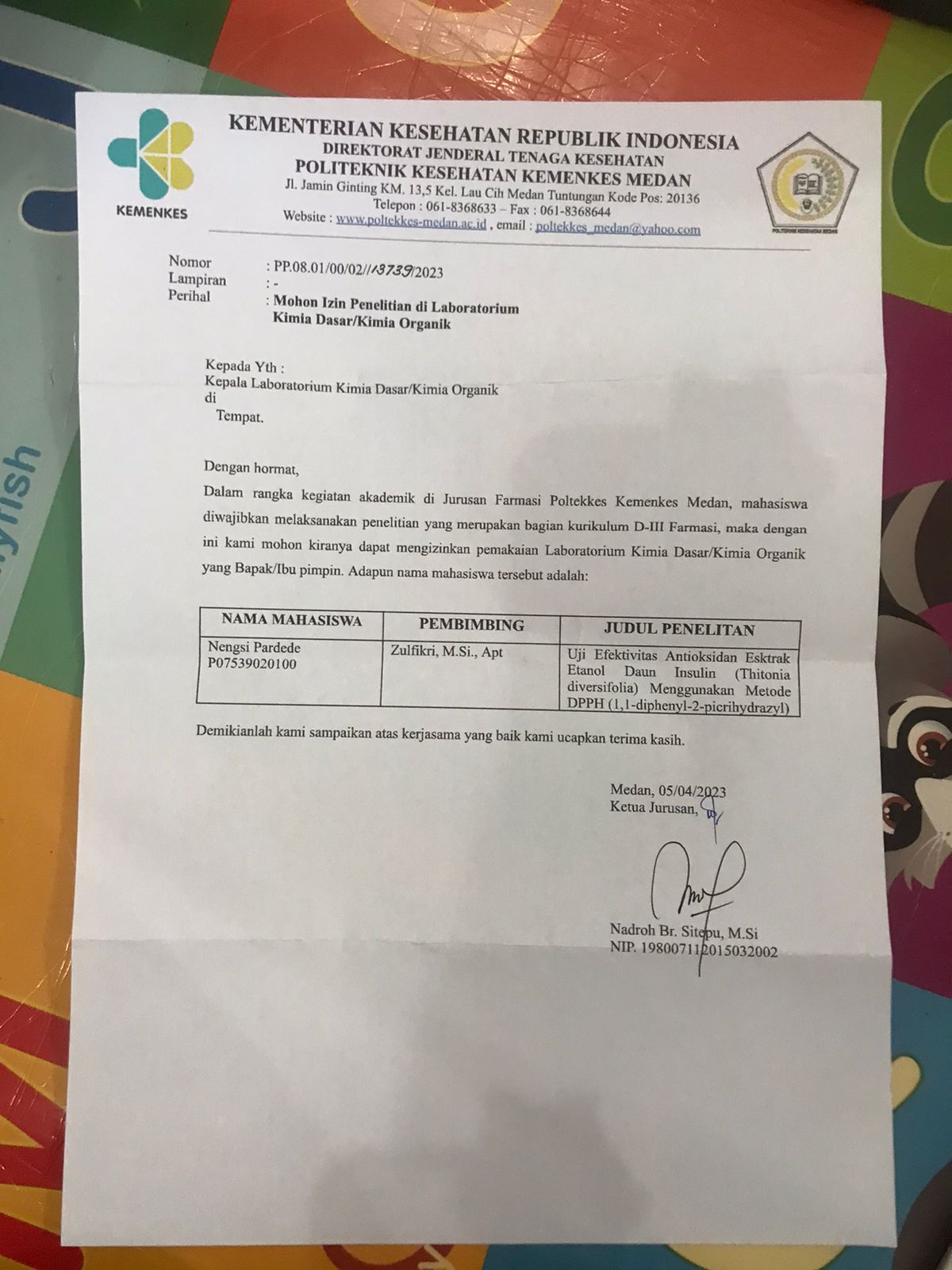
50 = 0,143 x + 37,404

X = 88,08 µg/ml

Lampiran 3 Hasil Rotary



Lampiran 4 Surat pemakaian laboratorium untuk melakukan penelitian



Lampiran 5 Kartu laporan pertemuan bimbingan KTI

Lampiran 6 Laporan data pengujian pada alat spektrofotometer UV-Vis

DATA\_NENGSI\_27MEI.bas Time:5/27/2023 16:26 AM

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Wavelength(nm) | Abs | Tran(%T) | Energy | Note |
| 1 | 516.0 | 0.772 | 18.4 | 5063 |  |
| 2 | 516.0 | 0.772 | 18.4 | 5063 |  |
| 3 | 516.0 | 0.772 | 18.4 | 5063 |  |
| 4 | 516.0 | 0.425 | 27.3 | 7431 |  |
| 5 | 516.0 | 0.425 | 27.3 | 7431 |  |
| 6 | 516.0 | 0.425 | 27.3 | 7431 |  |
| 7 | 516.0 | 0.370 | 45.7 | 12665 |  |
| 8 | 516.0 | 0.370 | 45.7 | 12665 |  |
| 9 | 516.0 | 0.370 | 45.7 | 12665 |  |
| 10 | 516.0 | 0.335 | 46.5 | 13041 |  |
| 11 | 516.0 | 0.335 | 46.5 | 13041 |  |
| 12 | 516.0 | 0.335 | 46.5 | 13041 |  |
| 13 | 516.0 | 0.251 | 54.2 | 15195 |  |
| 14 | 516.0 | 0.251 | 54.2 | 15195 |  |
| 15 | 516.0 | 0.251 | 54.2 | 15195 |  |
| 16 | 516.0 | 0.207 | 57.8 | 18762 |  |
| 17 | 516.0 | 0.207 | 57.8 | 18762 |  |
| 18 | 516.0 | 0.207 | 57.8 | 18762 |  |
| 19 | 516.0 | 0.574 | 24.7 | 6207 |  |
| 20 | 516.0 | 0.574 | 24.7 | 6207 |  |
| 21 | 516.0 | 0.574 | 24.7 | 6207 |  |
| 22 | 516.0 | 0.478 | 25.6 | 7207 |  |
| 23 | 516.0 | 0.478 | 25.6 | 7207 |  |
| 24 | 516.0 | 0.478 | 25.6 | 7207 |  |
| 25 | 516.0 | 0.360 | 43.7 | 12241 |  |
| 26 | 516.0 | 0.360 | 43.7 | 12241 |  |
| 27 | 516.0 | 0.360 | 43.7 | 12241 |  |
| 28 | 516.0 | 0.291 | 51.2 | 14339 |  |
| 29 | 516.0 | 0.291 | 51.2 | 14339 |  |
| 30 | 516.0 | 0.291 | 51.2 | 14339 |  |
| 31 | 516.0 | 0.175 | 60.5 | 20195 |  |
| 32 | 516.0 | 0.175 | 60.5 | 20195 |  |
| 33 | 516.0 | 0.175 | 60.5 | 20195 |  |

Lampiran 7 Laporan dokumentasi kegiatan penelitian

|  |  |
| --- | --- |
| Pengambilan Sampel | Pengayakan serbuk yang udah diblender |
| Penimbangan serbuk Halus | Pembuatan Maserasi |
| Hasil larutan maserasi | Proses rotary evaporator |

|  |  |
| --- | --- |
| Hasil Ekstrak | Menimbang ekstrak sebanyak 102 mg |
| Pembuatan Larutan Induk | Pembuatan larutan variasi konsentrasi dari 50 ppm -250 ppm |
| Pembuatan larutan kedalam kuvet | Pengujian larutan dengan Spektrofotometer Vis |

Lampiran 8 Laporan bukti pengesahan EC

