AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING*

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
dalam Ilmu Biologi

Disusun oleh:

Lina Alfina Rahmawati

NIM: 2108016067

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2025

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING*

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
dalam Ilmu Biologi

Disusun oleh:

Lina Alfina Rahmawati

NIM: 2108016067

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2025

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lina Alfina Rahmawati

NIM : 2108016067

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir) Hieron) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING*

Secara keseluruhan merupakan hasil penelitian/karya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 14 Juli 2025

Pembuat Pernyataan



Lina Alfina Rahmawati

NIM: 2108016067

KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO **FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**
Jl. Prof. Dr. Hamka, Ngaliyan, Kota Semarang
Telp. (024) 7601295-Fax. 7615387

LEMBAR PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul	: **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (*Desv. ex* Poir.) Hieron.) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING***
Penulis	: Lina Alfina Rahmawati
NIM	: 2108016067
Jurusan	: Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam Biologi.

Semarang, 23 Juli 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I	Penguji II
Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech.	Dr. Sri Handayani, M.Si.
NIP. 198412182011012004	NIP. 198302282008122001
Penguji III	Penguji IV
Mirnaatu Na'ima, M.Sc.	Nella Ayu Akmalia, M.Sc.
NIP. 198809302019032013	NIP. 199008212019032013
Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech.	Dr. Sri Handayani, M.Si.
NIP. 198412182011012004	NIP. 198302282008122001

NOTA DINAS

Semarang, 14 Juli 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (*Desv*. ex Poir.) Hieron.) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING***

Nama : Lina Alfina Rahmawati

NIM : 2108016067

Program Studi: Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Pembimbing I

Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech
NIP. 198412182011012004

NOTA DINAS

Semarang, 14 Juli 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTI-KOLAGENASE EKSTRAK TANAMAN CAKAR AYAM (*Selaginella plana* (*Desv*. ex Poir.) Hieron.) SEBAGAI AGEN POTENSIAL *ANTI-AGING***

Nama : Lina Alfina Rahmawati

NIM : 2108016067

Program Studi: Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Pembimbing II

Dr. Sri Handayani, M.Si.
NIP. 198302282008122001

ABSTRAK

Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) diketahui mempunyai kandungan senyawa bioaktif yang mampu menghambat stres oksidatif dan aktivitas enzimatik seperti kolagenase. Akan tetapi, belum ada penelitian sebelumnya yang melaporkan aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase sebagai antioksidan dan agen *anti-aging* alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase dari ekstrak tanaman cakar ayam sebagai agen potensial *anti-aging*. Metode UAE, Maserasi dan Infudasi digunakan dalam ekstraksi, diikuti analisis TPC (*Folin-Ciocalteu*), TFC (kolorimetri AlCl3), Aktivitas antioksidan (DPPH) dan Aktivitas Anti-Kolagenase. Data analisis dengan deskriptif dan statistik untuk menentukan perbedaan signifikan antar ekstrak. Berdasarkan hasil uji TPC ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades mencapai 0.0082±0.00012 mg GAE/g dan 0.0261±0.00017 mg GAE/g secara berturut-turut. Uji TFC ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades mencapai 0.02097±0.00015 mg QE/g dan 0.00323±0.00026 mg QE/g secara berturut-turut. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades memiliki nilai IC_{50} sebesar 1024.19 ppm dan 1128.36 ppm. Aktivitas anti-kolagenase ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades memiliki nilai % inhibisi sebesar 45.4143% dan 74.4535%. Ekstrak etanol 70% menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak akuades, meskipun keduanya tergolong sangat lemah. Sebaliknya, ekstrak akuades memperlihatkan potensi penghambatan enzim kolagenase yang lebih signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (*Desv*. ex Poir.) Hieron.) mengandung senyawa bioaktif berpotensi dikembangkan sebagai agen *anti-aging* alami.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan, Aktivitas anti-kolagenase, Anti-aging, TPC, TFC, *Selaginella plana*

ABSTRACT

Asian Spikemoss (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) is known to contain bioactive compounds that can inhibit oxidative stress and enzymatic activities such as collagenase. However, no previous studies have reported antioxidant and anti-collagenase activities as antioxidants and natural *anti-aging* agents. This study aims to determine the antioxidant and anti-collagenase activities of Asian Spikemoss plant extract as a potential *anti-aging* agent. UAE, Maceration and Infusion methods were used in the extraction, followed by TPC analysis (Folin-Ciocalteu), TFC (AlCl3 colorimetry), Antioxidant Activity (DPPH) and Anti-Collagenase Activity. Data analysis was descriptive and statistical to determine significant differences between extracts. Based on the results of the TPC test, 70% ethanol extract and aquadest extract reached 0.0082 ± 0.00012 mg GAE / g and 0.0261 ± 0.00017 mg GAE / g, respectively. The TFC test of 70% ethanol extract and aquadest extract reached 0.02097±0.00015 mg QE/g and 0.00323±0.00026 mg QE/g respectively. The antioxidant activity of 70% ethanol extract and aquadest extract had IC_{50} values of 1024.19 ppm and 1128.36 ppm, respectively. The anti-collagenase activity of 70% ethanol extract and aquadest extract had % inhibition values of 45.4143% and 74.4535%. The 70% ethanol extract showed better antioxidant activity than the aquadest extract, although both were classified as very weak. In contrast, the aquadest extract showed a more significant potential for inhibiting the collagenase enzyme. These findings indicate that the Asian Spikemoss plant (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) contains bioactive compounds that have the potential to be developed as natural *anti-aging* agents.

Keywords: Antioxidant activity, Anti-collagenase activity, Anti-aging, TPC, TFC, *Selaginella plana*

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab Latin dalam skripsi ini berpedoman pada SKB Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan R.I. Nomor: 158/1987 dan Nomor: 0543b/U/1987. Penyimpangan penulisan kata sandang [al-] disengaja secara konsisten supaya sesuai teks Arabnya.

ا	A	ط	t}
ب	B	ظ	z}
ت	T	ع	‘
ث	s\	غ	g
ج	j	ف	f
ح	h}	ق	q
خ	kh	ك	k
د	D	ل	l
ذ	z\	م	m
ر	R	ن	n
ز	Z	و	w
س	S	ه	’
ش	sy	ء	y
ص	s}	ي	
ض	d}		

Bacaan Madd :
a> = a panjang
i> = i panjang
u> = u panjang

Bacaan Diftong :
au = اَوْ
ai = اَيْ
iv = اِيْ

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan nikmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul **Aktivitas Antioksidan dan Anti-Kolagenase Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebagai Agen Potensial *Anti- Aging*.** Tugas akhir ini ditujukan sebagai wujud tanggung jawab penulis selaku mahasiswa program studi Biologi, yang mengharuskan penulis untuk memberikan kontribusi kepada masyarakat serta lingkungan melalui penerapan ilmu yang diperoleh selama masa perkuliahan.

Dengan terselesainya tugas akhir ini, penulis menyadari bahwa keberhasilan ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dorongan, serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.
2. Bapak Prof Dr. H. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
3. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Biotech. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang.

4. Ibu Galih Kholifatun Nisa', M.Sc. selaku Sekretaris Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang.
5. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Dr. Sri Handayani, M.Si. di Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan (PRTPP), BRIN Gunung Kidul selaku dosen pembimbing II yang telah banyak membantu, meluangkan waktu dan tenaganya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama proses pengerjaan tugas akhir ini dan bersedia mengawal penulis selama proses penelitian yang melelahkan.
6. Bapak Andang Syaifudin, M.Sc. selaku Dosen Wali yang senantiasa membimbing dan memberikan pengarahan dari semester pertama hingga sekarang ini.
7. Bapak dan Ibu Dosen, Pegawai, dan Staf akademik UIN Walisongo Semarang yang telah membagi ilmunya selama perkuliahan.
8. Ibu Khoirun Nisa' selaku peneliti serta Bapak dan Ibu staf Laboratorium Karakteristik Terpadu Umar Anggara Jenie, BRIN Gunung Kidul, yang telah berkontribusi dalam penyediaan fasilitas laboratorium, arahan teknis, serta suasana kerja yang kondusif. Terimakasih atas segala bantuan dan arahan selama penelitian di laboratorium berlangsung.

9. Orang Tua penulis, Bapak Maskuri dan Ibu Siti Choiriyah yang senantiasa mencurahkan kasih sayang, perhatian, pengorbanan, kesabaran dan doa yang tulus serta memberi semangat dan dukungan baik moral maupun materil yang menjadi sumber kekuatan terbesar yang mengalir dalam setiap langkah perjalanan penulis selama kegiatan perkuliahan hingga penelitian ini selesai. Terima kasih sudah menjadi pilar utama dalam hidup penulis, yang selalu mendukung dengan penuh cinta tanpa syarat. Semoga segala pengorbanan dan kasih sayang Bapak dan Ibu dibalas dengan keberkahan dan kebahagiaan yang melimpah.
10. Saudari perempuan penulis, Nurul Afif Muzaziroh, S.Pd., Gr. dan Ani Malichatun, S.Pd., M.A. yang selalu mendukung, membantu dan memberikan support penuh kepada penulis selama melakukan penelitian di Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, BRIN Gunung Kidul. Terima kasih sudah menjadi tempat pulang, tempat bernaung dan berteduh, menjadi teman dan tempat berkeluh kesah yang tidak pernah menyudutkan selama membersamai jatuh bangunnya penulis selama penelitian berlangsung.
11. Reaserch Assistant BRIN Gunung Kidul, Yogyakarta terkhusus *Reaserch Assistant* PBAF, Mba Nurma, Mba Wafda, Mba Nadia dan Mba Endah yang lebih dari

sekedar rekan kerja dan teman yang luar biasa dalam mendampingi, membantu, serta memastikan kelancaran kegiatan penulis selama penelitian berlangsung. Bantuan serta dukungan moral yang terjalin selama proses ini sangat penulis hargai dan akan selalu dikenang.

12. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2021 terkhusus kelas B dan KKN Mandiri Misi Khusus Biologi, yang membersamai dan menjadi tempat bertanya sekaligus bertukar ilmu.
13. Teman-teman seperjuangan Kost Brindafun, Mas Amrizal, Mba Zitta, Mba Ritti, Mba Yuni, Mba Nurma, Mugi, Ghufron, Afif, Pras serta Bapak Andi dan Ibu Ari, atas semua kebersamaan dan dukungan luar biasa selama masa penelitian ini. Semua momen kerja keras selama di laboratorium hingga petualangan di Bumi Gunung Kidul akan menjadi kenangan berarti bagi penulis. Terima kasih atas lingkungan suportif dan semangat kekeluargaan yang tulus.

Semoga rahmat dan keberkahan Allah SWT senantiasa tercurah, serta Allah SWT senantiasa meridhoi setiap langkah mereka dan mengabulkan segala doa-doa yang dipanjatkan. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini, baik dari segi sistematika penulisan, pemilihan kata maupun aspek lainnya. Semoga hal tersebut

tidak menghalangi kebermanfaatan karya tugas akhir ini kepada pembaca dan penulis.

Semarang, 19 Mei 2025



Lina Alfina Rahmawati
NIM. 2108016067

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**

PERNYATAAN KEASLIAN ..... **ii**

LEMBAR PENGESAHAN ..... **iii**

NOTA DINAS ..... **iv**

NOTA DINAS ..... **v**

ABSTRAK ..... **vi**

ABSTRACT ..... **vii**

TRANSLITERASI ARAB-LATIN ..... **viii**

KATA PENGANTAR ..... **ix**

DAFTAR ISI ..... **xiv**

DAFTAR TABEL ..... **xviii**

DAFTAR GAMBAR ..... **xix**

BAB I PENDAHULUAN **1**

A. Latar Belakang 1

B. Rumusan Masalah 7

C. Tujuan 7

D. Manfaat 8

BAB II LANDASAN PUSTAKA **10**

A. Kajian Teori **10**

1. Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) 10

2. Senyawa Metabolit Sekunder 13

3. *Aging* dan Mekanisme *Aging* 18

4. Antioksidan dan Aktivitas Antioksidan.....20
5. Enzim Kolagenase dan Aktivitas Anti-Kolagenase.....23
6. Metode Ekstraki.....29
B. Unity of Science.....33
C. Kajian Penelitian yang Relevan.....37
D. Kerangka Berpikir.....47
E. Hipotesis.....48
BAB III METODE PENELITIAN.....49
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....49
B. Alat dan Bahan.....49
C. Metode.....50
1. Determinasi Tanaman.....50
2. Persiapan dan Pengolahan Sampel.....51
3. Proses Ekstraki Sampel.....52
4. Pengujian Fenolik Total Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).....53
5. Pengujian Flavonoid Total Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).....55
6. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dengan Metode DPPH.....57
7. Uji Aktivitas Anti-Kolagenase Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).....60

8. Analisis Data 62
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 63
A. Deskripsi Hasil Penelitian 63
1. Hasil Determinasi Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) 63
2. Ekstraksi Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) 63
3. Pengujian Fenolik Total 65
4. Pengujian Flavonoid Total 67
5. Pengujian Aktivitas Antioksidan 70
6. Pengujian Aktivitas Anti-kolagenase 72
B. Pembahasan Hasil Penelitian 74
1. Determinasi Tanaman 74
2. Pembuatan Simplisia 74
3. Ekstraksi Senyawa Bioaktif 78
a. Ekstraksi dengan Pelarut Etanol 70% 78
b. Ekstraksi dengan Pelarut Akuades 81
4. Pengujian Fenolik Total 84
5. Pengujian Flavonoid Total 88
6. Pengujian Aktivitas Antioksidan 91
7. Pengujian Aktivitas Anti-Kolagenase 94
BAB V SIMPULAN DAN SARAN 99
A. SIMPULAN 99
B. SARAN 100
DAFTAR PUSTAKA 101

LAMPIRAN.....118
RIWAYAT HIDUP.....126

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kategori kekuatan aktivitas antioksidan 60
Tabel 4.1 Rendemen hasil ekstraksi. 64
Tabel 4.2 Hasil kadar fenolik total ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). 66
Tabel 4.3 Hasil kadar flavonoid ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). 68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)..... 11
Gambar 2.2 Klasifikasi metabolit sekunder pada tumbuhan berdasarkan struktur kimia dan fungsi biologisnya, meliputi senyawa nitrogen, senyawa fenolik, glikosida, tannin, dan terpenoid..... 14
Gambar 2.3 Struktur kimia kolagen (A), Distribusi kolagen dalam tubuh (B)..... 24
Gambar 2.4 Bagan Kerangka Berpikir..... 47
Gambar 4.1 Ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). (a) Ekstrak etanol 70% (SE 70) dan (b) Ekstrak akuades (SW).....64
Gambar 4.2 Diagram batang perbandingan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)..... 67
Gambar 4.3 Diagram batang perbandingan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)..... 69
Gambar 4.4 Diagram batang aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)..... 71
Gambar 4.5 Diagram batang perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). .....**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 4.6 Diagram batang perbandingan aktivitas anti-kolagenase ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)..... 73
Gambar 4.7 Reaksi kimia senyawa fenol dengan reagen *Folin-Ciocalteu*..... 85
Gambar 4.8 Reaksi pembentukan senyawa quercetin dengan $AlCl_3$ 889

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Determinasi.....119
Lampiran 2. Data Pengujian Fenolik Total.....120
Lampiran 3. Data Pengujian Flavonoid Total.....121
Lampiran 4. Data Pengujian Aktivitas Antioksidan.....122
Lampiran 5. Data Pengujian Aktivitas Anti-Kolagenase.....123
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....123

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penuaan merupakan perubahan pada manusia yang disebabkan oleh faktor usia, psikologis, serta sosial. Secara umum, penuaan adalah tahapan dalam dalam kehidupan manusia yang ditandai dengan perubahan-perubahan fisik. Proses perubahan fisik ini bisa diperlambat, salah satunya melalui penggunaan agen *anti-aging* berupa obat-obatan maupun produk kosmetik (Yatmihatun & Estuningsih, 2020). Di samping itu, proses penuaan turut dipengaruhi oleh *reactive oxygen spesies* (ROS) yang terbentuk di dalam sel, sebagai produk samping dari proses respirasi aerobik. ROS berkontribusi dalam proses biokimiawi pada tingkat seluler, contohnya kontak seluler dengan zat toksik seperti logam berat, radiasi *peng-ion*, serta interaksi dengan zat antioksidan. ROS bisa dinetralkan oleh antioksidan endogen, termasuk *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), *glutathione peroksidase* (GPx), dan *glutathione reduktase* (GR)(Yatmihatun & Estuningsih, 2020).

Kulit sebagai organ terbesar dalam tubuh manusia sering terpapar berbagai polutan udara, termasuk asap knalpot diesel, sinar ultraviolet dari matahari, zat yang terkandung dalam makanan, xenobiotik, serta obat-obatan

dan kosmetik tertentu yang mengandung bahan berbahaya, yang semuanya dapat merangsang produksi ROS. ROS yang berlebih dapat memicu degradasi kolagen melalui aktivasi enzim matrix metalloproteinase (MMP), khususnya kolagenase, sehingga mempercepat penuaan dan peradangan kulit, karena ROS terlibat dalam berbagai jalur reaksi yang kompleks dan terkadang menghasilkan molekul serta atom dengan elektron yang tidak berpasangan, yang dikenal sebagai radikal bebas. Dalam tubuh makhluk hidup, radikal bebas ini bisa berupa radikal lipid, protein, maupun DNA (Nakai & Tsuruta, 2021).

Radikal bebas memiliki tingkat ketidakstabilan tinggi dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya. Dalam mencapai kestabilan, senyawa ini akan berinteraksi dengan molekul lain di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Proses ini dapat memicu reaksi berantai yang berlanjut dalam tubuh. Jika tidak dikendalikan, radikal bebas bisa memicu berbagai masalah kesehatan. Dengan demikian, tubuh membutuhkan antioksidan, senyawa yang berfungsi menetralkan radikal bebas agar tidak memicu kerusakan lebih lanjut (Syahara & Vera, 2020).

Radikal bebas terbentuk secara alami selama berbagai proses metabolisme dalam tubuh, termasuk produksi energi oleh mitokondria. Ketika sel menghasilkan energi

melalui oksidasi untuk memproduksi ATP, radikal bebas dihasilkan sebagai produk sampingan. Selain itu, proses aerobik lain seperti aktivitas fisik yang intens, respirasi seluler, dan respons tubuh terhadap infeksi mikroba melalui aktivasi fagosit juga berkontribusi pada pembentukan radikal bebas. Molekul ini pertama kali diidentifikasi dalam sistem biologis pada tahun 1950, dan sejak itu langsung dikaitkan dengan proses penuaan (Warraich *et al*., 2020).

Stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS berkontribusi terhadap perkembangan banyak penyakit, termasuk penuaan (Parcheta *et al*., 2021). Stres oksidatif menyebabkan kerusakan seluler yang berdampak pada degradasi kolagen, protein struktural utama dalam kulit yang memberikan kekencangan dan elastisitas. Degradasi kolagen ini terjadi akibat enzim kolagenase yang berperan penting dalam proses penuaan. Struktur fibrosa pada dermis, seperti kolagen memiliki peran penting dalam menjaga elastisistas kulit. Aktivitas enzim kolagenase dapat mendegradasi struktur kolagen ini, sehingga berkontribusi terhadap hilangnya elastisitas kulit serta pembentukan kerutan (*aging*) (Mohsen *et al*., 2020). Kolagenase bekerja dengan cara memutus ikatan peptida, terutama pada molekul kolagen untuk menghancurkan struktur matriks

ekstraseluler yang bertanggung jawab atas kekuatan dan fleksibilitas kulit (Duarte *et al*., 2024).

Kerusakan kolagen akibat aktivitas enzim kolagenase berkontribusi pada munculnya tanda-tanda penuaan seperti meningkatnya kerutan, kulit menjadi kering, kurang halus dan lebih sensitif terhadap faktor eksternal. Serat elastis berfungsi memberikan kelenturan dan elastisitas pada kulit, sedangkan kolagen berperan menjaga kekencangan dan kekuatan strukturnya. Pada kulit yang menua, serat elastis mengalami penipisan, terutama pada lapisan papiler, sehingga kemampuan kulit untuk meregang dan kembali ke bentuk semula berkurang. Sementara itu, kolagen mengalami degradasi yang mengurangi kekuatan dan kekencangan kulit. Kerusakan serat elastis dan kolagen menyebabkan kulit kehilangan elastisitas dan memunculkan kerutan. (Rostkowska *et al*., 2023).

Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas serta kemampuan sistem antioksidan memicu stres oksidatif, yang berpotensi menimbulkan modifikasi oksidatif makromolekul biologis serta disfungsi struktural dan fungsional sel, sehingga mengganggu fungsi seluler dan mempercepat penuaan (Di Meo & Venditti, 2020). Salah satu pendekatan yang berkembang untuk mengatasi proses penuaan kulit akibat stres oksidatif melalui pemanfaatan bahan alam yang mengandung senyawa bioaktif, seperti

flavonoid dan senyawa fenolik, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase,

Selama berabad-abad, tumbuhan berperan sebagai sumber utama yang mendukung kesehatan manusia di seluruh dunia. Diperkirakan sekitar 60-75% populasi dunia memanfaatkan tumbuhan sebagai terapi alternatif dalam pengobatan tradisional mengalami peningkatan yang signifikan, terutama karena semakin tingginya biaya obat-obatan sintetik (Chikmawati *et al*., 2012). Di Indonesia banyak ditemui tumbuhan yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat alternatif.

Dalam upaya menemukan bahan alami yang memiliki potensi sebagai kandidat agen *anti-aging*, tanaman dari genus *Selaginella* telah menjadi objek penelitian yang menarik. Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, contohnya senyawa fenolik yang mencakup flavonoid serta biflavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Kandungan antioksidan pada tanaman ini diharapkan mampu menetralisir ROS, sehingga dapat mengurangi stres oksidatif. Oleh karena itu, tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat menjadi alternatif sumber antioksidan alami. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa sejumlah spesies

Selaginella memiliki kandungan senyawa amentoflavone, yaitu salah satu jenis biflavonoid yang termasuk dalam kelompok flavonoid. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan serta berpotensi menghambat enzim seperti kolagenase. Salah satu spesies *Selaginella* yaitu *Selaginella rossii,* telah terbukti memiliki efek yang menguntungkan dalam mengurangi tanda-tanda penuaan kulit yang diinduksi oleh UV-B dan stres oksidatif (Lee *et al*., 2022).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dipergunakan dalam sistem pengobatan tradisional dalam bentuk rebusan dalam pengobatan sakit kepala, demam tinggi, pendarahan, cedera, stroke, gangguan menstruasi, perdarahan rahim, tonik untuk pengobatan pasca melahirkan, sebagai obat luka serta memperkuat kekebalan tubuh terhadap malaria. Sedangkan untuk keperluan pengobatan lainnya digunakan dengan cara memasak atau memakannya langsung sebagai sayuran (Setyawan, 2009)

Penelitian tentang metabolit sekunder serta aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) untuk mengungkap lebih jauh potensinya sebagai kandidat agen *anti-aging* alami dan efektif yang komprehensif masih sangat terbatas. Penelitian ini memiliki kebaruan dan

relevansi yang tinggi dalam mengungkap potensi sumber bahan alami baru terkait senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah *aging* dan kesehatan kulit. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang lebih mendalam terkait aktivitas antioksidan serta anti-kolagenase pada tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan pada latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) ?
2. Bagaimana aktivitas anti-kolagenase dari ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebagai agen potensial *anti-aging* ?

C. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini, maka tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Analisis aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

2. Analisis aktivitas anti-kolagenase dari ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebagai agen potensial *anti-aging.*

D. Manfaat

1. Bagi Peneliti

a. Menambah pengetahuan serta keterampilan mahasiswa dalam mengidentifikasi lebih dalam terkait tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase.

b. Menambah pengetahuan dan keterampilan dalam teknik ekstraksi, analisis aktivitas antioksidan, dan uji aktivitas anti-kolagenase, yang berguna untuk riset lanjutan atau pengembangan karier di bidang penelitian terkait.

c. Menyediakan data bagi penelitian lanjutan atau perbandingan dalam penelitian sejenis, khususnya dalam eksplorasi potensi tanaman lain dengan manfaat *anti-aging*.

2. Bagi Instansi

a. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya yang relevan pengembangan ilmu botani maupun biokimia dengan menambah data ilmiah tentang manfaat

tanaman lokal, seperti tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebagai agen potensial *anti-aging*.

b. Mendukung pengembangan kajian bioaktivitas tanaman *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.), khususnya dalam mengeksplorasi potensinya sebagai agen *anti-aging* melalui aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase di laboratorium instansi terkait.

c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan di bidang biokimia ataupun kimia bahan alam.

3. Bagi Masyarakat

a. Penelitian ini diharapkan bisa menjadi sumber pengetahuan terkait potensi *anti-aging* berbasis ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (*Desv.* ex Poir.) Hieron.) yang lebih alami yang dinilai memiliki efek samping lebih rendah dibandingkan bahan kimia sintetis.

b. Membantu masyarakat dalam memahami pentingnya antioksidan dan agen anti-kolagenase dalam melindungi kulit terhadap gejala penuaan dini yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Selaginella adalah anggota dari famili Selaginellaceae, yang kerap disebut sebagai "*spikemoss*". Famili ini adalah satu-satunya kelompok paku heterospora terbesar dalam *Selaginellaceae* yang masih ada hingga sekarang. Genus *Selaginella* mencakup sekitar 700 hingga 750 spesies yang tersebar di berbagai penjuru dunia. Keanekaragaman tertinggi ditemukan di wilayah tropis dan subtropis, di mana tanaman ini tumbuh di berbagai kondisi tanah dan iklim. Di Indonesia, genus *Selaginella* ini tersebar luas di berbagai pulau, termasuk Sumatera. Identifikasi spesies *Selaginella* telah dilakukan di Sumatera Selatan. Salah satu spesies yang menarik perhatian adalah *Selaginella plana*, yang ditemukan di kawasan Bukit Gatan, Kabupaten Musi Rawas, Sumatera Selatan bersama dengan beberapa spesies lain seperti *S. waliichii*, *S. intermedia dan S. ornata* (Suryani *et al*., 2023). Selain itu, beberapa spesies juga mampu bertahan di lingkungan yang ekstrim seperti gurun kering, contohnya *S. lepidophylla, S. sartorii* dan daerah pegunungan sejuk

atau tundra seperti *S. selaginoides* dan *S. rupestris* (Adnan *et al*., 2021). Morfologi tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (*Desv*. ex Poir) Hieron) ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) (GBIF, 2023).

Berikut merupakan klasifikasi tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (*Desv*. ex Poir.) Hieron.) (GBIF, 2023).

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Lycopodiopsida
Ordo : Selaginellales
Famili : Selaginellaceae
Genus : *Selaginella* P.Beauv.
Spesies : *Selaginella plana (*Desv. ex Poir.) Hieron.).

Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.)

Hieron.) yang dikenal dengan nama umum cakar ayam (Jawa) merupakan tanaman herba yang dapat tumbuh di tanah (terestrial), di atas batu (epilitik), atau bahkan kadang-kadang sebagai epifit. Rimpangnya dapat tumbuh tegak, merambat, atau menjalar dengan rhizofor pada rimpang bawah untuk mendukung pertumbuhan akar (Matsunaga *et al*., 2017). Daunnya berukuran sangat kecil, dengan panjang sekitar 10 mm pada cabang yang bercabang dikotomi (Wulandari et al., 2025). Ukuran batang cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) bervariasi, spesies kecil tumbuh hingga sekitar 3 cm, sedangkan spesies yang lebih besar dapat tumbuh hingga mencapai panjang antara 20-60 cm hingga sekitar 1 meter tergantung kondisi lingkungannya (Wulandari et al., 2025).

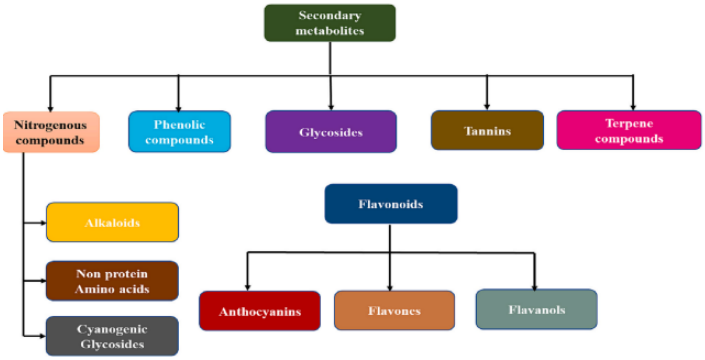
Genus ini mengandung berbagai metabolit bioaktif sekunder, seperti terpenoid (termasuk triterpen dan steroid), senyawa fenolik (seperti flavonoid, tanin, dan saponin), serta alkaloid. Di antara senyawa tersebut, biflavonoid yang terbentuk dari dimer flavon dan flavanon dianggap sebagai senyawa penting, dengan struktur yang memiliki pola teroksigenasi khas 5,7-4'. Dengan demikian, tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) memiliki potensi besar berkat kandungan fitokimia, aktivitas etnobotani dan

aktivitas biologis yang beragam, yang didukung oleh keberadaan berbagai metabolit sekunder yang menjanjikan (Adnan *et al*., 2021).

2. Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder ialah senyawa organik yang diproduksi oleh tanaman, jamur, dan mikroorganisme, dan memiliki berbagai fungsi di luar pertumbuhan dan perkembangan dasar. Tidak seperti metabolit primer yang berperan penting untuk mendukung keberlanjutan hidup dan proses tumbuhan organisme, metabolit sekunder tidak langsung terlibat dalam proses ini. Sebaliknya, metabolit sekunder umumnya berfungsi dalam mekanisme pertahanan terhadap herbivora dan patogen, komunikasi dengan organisme lain, serta adaptasi terhadap berbagai stres lingkungan. Senyawa-senyawa ini memiliki struktur kimia yang beragam dan signifikan untuk bidang pengobatan, ekologi, dan industri. Alkaloid, terpenoid, dan senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang menunjukkan potensi pengobatan yang luas berkat beragam aktivitas biologisnya, serta manfaat terapeutik dalam dunia medis. Senyawa seperti tanin, flavonoid, terpenoid dan alkaloid diketahui memiliki aktivitas anti mikroba serta aktivitas anti-inflamasi (Khan *et al*., 2024).

Sifat kimia dan komposisi metabolit pada tumbuhan berbeda-beda jenis. Tidak ada perbedaan yang jelas antara metabolit primer dan sekunder dan hal ini cukup membingungkan untuk didefinisikan, sebab kebanyakan metabolit pada produk alami tumbuhan merupakan senyawa metabolit sekunder (Twaij & Hasan, 2022). Metabolit sekunder dalam tumbuhan umumnya diklasifikasikan ke dalam tiga golongan utama berdasarkan jalur biosintesisnya, meliputi senyawa fenolik, terpenoid, serta alkaloid. Namun, klasifikasi juga dapat dilakukan berdasarkan struktur kimia dan sifat fungsionalnya, seperti senyawa nitrogen, glikosida, tannin, dan flavonoid, sebagaimana ditampilkan pada Gambar ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2. 2 Klasifikasi metabolit sekunder pada tumbuhan berdasarkan struktur kimia dan fungsi biologisnya, meliputi senyawa nitrogen, senyawa fenolik, glikosida, tannin, dan terpenoid. (Singh *et al.*, 2023).

Metabolit sekunder dapat dikategorikan berdasarkan struktur kimianya (seperti keberadaan cincin), komposisi (mengandung nitrogen atau tidak), kelarutan dalam pelarut organik maupun air, dan jalur metabolisme. Rute biosintesis adalah salah satu kriteria paling umum yang digunakan untuk mengklasifikasikan metabolit sekunder pada tumbuhan. Hal ini menegaskan bahwa terpen, molekul fenolik, dan alkaloid merupakan tiga kategori utama dimana metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat dibagi lebih lanjut (Singh *et al*., 2023).

a. Fenolik

Senyawa fenolik adalah golongan besar metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, terutama di bagian tumbuhan tingkat tinggi, contohnya sayuran, buah-buahan, rempah-rempah, biji-bijian, polong-polongan, serta kacang-kacangan. Senyawa ini memiliki peran penting dalam berbagai proses fisiologis tanaman, termasuk kualitas, warna, rasa, ketahanan terhadap stres. Selain itu, senyawa fenolik dikenal memiliki aktivitas biologis yang beragam, seperti sifat antioksidan alami, anti mikroba, antikarsinogenik, dan antiinflamasi (Zhang *et al*., 2022).

Banyak senyawa kimia yang tergolong sebagai

senyawa fenolik. Berdasarkan struktur molekulnya, senyawa fenolik dapat dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu molekul fenolik sederhana dan senyawa fenolik yang terpolimerisasi. Fenol lebih lanjut diklasifikasikan menjadi beberapa jenis, seperti asam fenolik, tanin, flavonoid, dan stilben. Dalam tumbuhan, asam fenolik dapat ditemukan dalam bentuk bebas maupun terikat, yaitu fenol yang memiliki satu gugus asam karboksilat. Asam fenolik sendiri terbagi menjadi dua kelas utama mencakup asam hidroksibenzoat dengan struktur C_6-C_1 dan asam hidroksisinamat dengan struktur C_6-C_3. Sementara itu, flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar dan paling banyak diteliti karena perannya yang signifikan dalam aktivitas biologis tanaman (Saini *et al*., 2024).

b. Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang melimpah pada tanaman, buah-buahan, dan biji-bijian, berkontribusi pada warna, aroma, dan rasa. Dalam tumbuhan, flavonoid memiliki peran dalam regulasi pertumbuhan, menarik serangga penyerbuk serta memberikan perlindungan terhadap tekanan biotik dan abiotik seperti kekeringan, panas, serta cuaca ekstrim. Selain itu,

flavonoid berfungsi sebagai filter UV, pengikat radikal bebas, dan molekul sinyal. Pada manusia, flavonoid memiliki manfaat kesehatan seperti sifat antiinflamasi, antikanker, anti-penuaan, dan antimikroba. Aktivitas biologisnya dipengaruhi oleh struktur kimia, terutama jumlah dan posisi gugus hidroksil. Flavonoid memiliki kerangka karbon dasar C_6-C_3-C_6, dengan dua cincin benzena (A dan B) terhubung oleh cincin piran (C). Gugus hidroksil pada cincin B memainkan peran kunci dalam kapasitas antioksidan, dengan mekanisme stabilisasi radikal bebas (Dias *et al*., 2021).

Flavonoid digolongkan menjadi enam kelas utama mencakup flavanol, flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan antosianin. Karena sifat antioksidannya yang unggul, flavonoid banyak digunakan di industri makanan, kosmetik, dan farmasi. Flavonoid termasuk bagian dari kelompok besar senyawa fenolik atau polifenol dan mencakup lebih dari 6.000 struktur yang berbeda. Pada tumbuhan, flavonoid dihasilkan melalui dua jalur biosintetik utama: jalur fenilpropanoid, yang membentuk kerangka fenilpropanoid (C_6-C_3), dan mekanisme poliketida, dalam menghasilkan blok untuk unit C_2 polimer (Nabavi *et al*., 2020).

3. *Aging* dan Mekanisme *Aging*

Aging adalah proses alami tubuh yang berlangsung secara bertahap dan tidak dapat diubah ataupun dihentikan, ditandai dengan penurunan fungsi sel dan jaringan serta meningkatnya bahaya kesehatan terkait penuaan misalnya gangguan neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, penyakit metabolik dan penyakit sistem kekebalan tubuh (Guo *et al*., 2022). Setiap orang mengalami penuaan, yang disebabkan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan intrinsik bukan hanya terjadi pada kulit, melainkan juga pada seluruh jaringan. Penuaan intrinsik ini berkaitan dengan faktor genetik, metabolisme, dan hormonal. Pada saat yang sama, sebagai organ terluar tubuh, kulit mengalami kerusakan yang disebabkan oleh lingkungan seperti polutan udara, asap rokok dan paparan sinar matahari. Kerusakan ini menyebabkan penuaan ekstrinsik, yaitu jenis penuaan kulit yang dipicu oleh faktor eksternal, bukan oleh proses alami tubuh (Bielach-Bazyluk *et al*., 2021). Penuaan intrinsik dan ekstrinsik dapat mengakibatkan penurunan integritas struktural kulit serta hilangnya fungsi fisiologis. Kulit yang menua menjadi kering, tidak berfungsi dan meningkatkan risiko penyakit kulit (Gu *et al*., 2020).

Penuaan seluler memiliki dampak signifikan terhadap pemeliharaan homeostasis jaringan normal serta berperan dalam berbagai kondisi patologis. Proses ini menjadi salah satu penyebab utama penuaan pada organisme dan berkontribusi pada perkembangan penyakit yang terkait dengan penuaan. Penuaan seluler didefinisikan sebagai penurunan bertahap kemampuan sel untuk proliferasi, berdiferensiasi, dan menjalankan fungsi fisiologisnya seiring waktu. Pada tahun 1956, Denham Harman memperkenalkan teori radikal bebas, yang menyatakan bahwa perubahan degeneratif yang terjadi selama proses penuaan disebabkan oleh dampak merugikan radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme seluler normal (Ziada *et al*., 2020).

Proses penuaan dipengaruhi oleh jalur yang kompleks dan saling terkait, di mana sebagian besar faktor pemicunya berhubungan dengan stres oksidatif kronis akibat meningkatnya kadar ROS (Mossad *et al*., 2022). Faktor lingkungan dapat merusak kulit melalui serangkaian reaksi kompleks di tingkat seluler. Proses ini dimulai dengan produksi ROS, menyebabkan kerusakan oksidatif pada elemen penting sel, termasuk protein, lipid, DNA, dan membran sel. Dampak lanjutan dari kerusakan ini meliputi melemahnya struktur sel, gangguan fungsi mitokondria, dan kerusakan kolagen

sebagai komponen utama matriks ekstraseluler yang menyebabkan kulit kehilangan elastisitas dan kekencangannya, yang merupakan ciri khas penuaan kulit (Chen *et al*., 2021). Penghambatan terhadap radikal bebas dan enzim kolagenase menjadi salah satu cara untuk mencegah penuaan dini.

4. Antioksidan dan Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang mencegah oksidasi senyawa lain atau menetralisir radikal bebas (Yashin *et al*., 2017). Antioksidan ialah senyawa yang mampu mencegah terjadinya proses oksidasi. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang bisa menghasilkan radikal bebas, yang kemudian menimbulkan reaksi berantai yang berpotensi merusak sel-sel organisme (Salehi *et al*., 2018). Antioksidan sebagai senyawa dengan struktur molekul mampu menyumbangkan elektronnya kepada radikal bebas tanpa mengalami gangguan fungsi. Senyawa ini berperan dalam menghentikan reaksi berantai yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Azhar *et al*., 2021). Antioksidan juga berperan dalam menetralisir ROS dan turunannya, baik secara langsung maupun tidak langsung (Mut-Salud *et al*., 2016).

Berdasarkan cara diperolehnya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami

dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami umumnya berasal dari makanan, terutama buah-buahan dan sayuran yang kaya akan molekul penangkap radikal bebas seperti senyawa fenolik, senyawa nitrogen, vitamin, terpenoid disertai sejumlah metabolit endogen lainnya yang memiliki aktivitas antioksidan. Sementara antioksidan sintetik ialah senyawa hasil sintesis kimiawi yang tidak ditemukan secara alami dan umumnya ditambahkan ke makanan sebagai bahan pengawet guna menghambat proses oksidasi lipid, karena sifat antioksidan alami yang tidak stabil, beberapa antioksidan sintetik telah digunakan untuk menstabilkan lemak dan minyak. Contohnya *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA), contoh lainnya yaitu *propil galat* (PG), *dodesil galat* (DG), *oktilgallat* (OG) dan *etilen diaminetetraasetat* (EDTA) (Atta *et al*., 2017).

Berdasarkan struktur dan mekanisme kerjanya, antioksidan dibagi menjadi dua jenis, mencakup antioksidan enzimatik serta non-enzimatik. Contoh antioksidan enzimatik mencakup *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), *glutathione peroksidase* (GTPx), *thioredoxin* (TRX), *peroksiredoksin* (PRX), *glutathione transferase* (GST), serta *glutathione peroksidase* (GPx). Sementara itu, antioksidan non-enzimatik mencakup

asam askorbat (Vitamin C), *glutathione* (GSH), *melatonin, tocopherol dan tocotrienol* (Vitamin E), asam urat, karotenoid, serta flavonoid (Mareta, 2020).

Superoksida dismutase (SOD) mengubah anion superoksida menjadi H_2O_2, yang merupakan substrat untuk CAT dan GSH-Px. Katalase metabolisme H_2O_2 dalam air dan oksigen, dan GSH-Px mereduksi H_2O_2 dan hidroperoksida organik ketika bereaksi dengan *glutathione* (GSH). Antioksidan eksogen, seperti vitamin E dan C, mungkin ada dalam organisme di membran sel, dan cairan intraseluler dan ekstraseluler, kemudian bereaksi dengan ROS untuk menghilangkan atau menghambatnya. Bagian dalam lipid hidrofobik pada membran memerlukan spektrum antioksidan yang berbeda. Vitamin E yang larut dalam lemak adalah antioksidan terpenting dalam lingkungan berfungsi melindungi terhadap hilangnya integritas membran (Munteanu & Apetrei, 2021).

Efektivitas senyawa antioksidan dipengaruhi oleh berbagai faktor, dengan yang paling utama meliputi sifat strukturalnya, suhu, karakteristik substrat yang rentan terhadap oksidasi, konsentrasi, keberadaan senyawa sinergis dan pro-oksidan, serta kondisi fisik. Struktur kimia antioksidan menentukan reaktivitasnya terhadap radikal bebas dan ROS lainnya, yang pada gilirannya

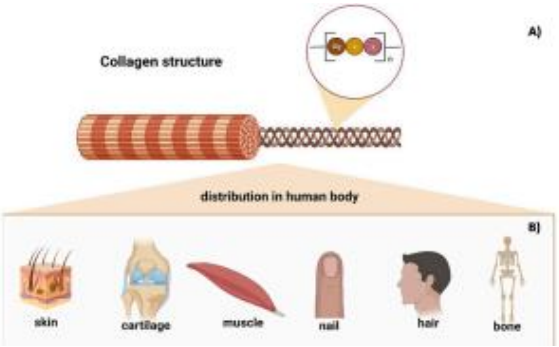
mempengaruhi aktivitas antioksidan tersebut. Efektivitas antioksidan juga ditentukan oleh konsentrasi serta distribusinya dalam sistem. Selain itu, kinetika reaksi berperan penting dalam perlindungan, baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang, mencakup kecepatan reaksi antara antioksidan dengan oksidan, termodinamika reaksi, dan kemampuan antioksidan untuk bereaksi. Semua faktor ini perlu dipertimbangkan untuk menentukan efisiensi dan pemilihan antioksidan yang tepat untuk keperluan tertentu (Munteanu & Apetrei, 2021).

5. Enzim Kolagenase dan Aktivitas Anti-Kolagenase

Kulit manusia adalah organ terbesar dalam tubuh yang memiliki fungsi sebagai penutup permukaan tubuh, penghalang serta pelindung antara tubuh dan lingkungan sekitarnya. Kulit tersusun atas tiga lapisan utama, yakni epidermis, dermis serta hipodermis. Epidermis tersusun atas beberapa lapisan sel yang disebut keratinosit, yang berfungsi menghasilkan keratin, sebuah protein struktural yang memberikan kekuatan dan perlindungan pada kulit. Pada lapisan dermis, sel utamanya adalah fibroblas yang memproduksi serat kolagen dan elastin.

Kolagen sebagai salah satu protein paling melimpah pada mamalia, terdiri dari 28 jenis yang

berbeda, masing-masing memiliki peran dan distribusi unik di dalam tubuh. Kolagen tipe I yang paling dominan dalam kulit, memiliki struktur triple heliks yang terdiri dari dua rantai α_1 dan satu rantai α_2. Struktur triple heliks ini mengandalkan asam amino penting seperti *lisin* (Lys), *glutamat* (Glu), dan *aspartat* (Asp), yang terlibat dalam interaksi non-kovalen kemudian membentuk ikatan elektrostatika dan hidrogen antara rantai triple heliks tersebut. Selain protein, epidermis dan dermis juga mengandung lipid (seperti ceramide, triasilgliserida, dan squalene) serta asam lemak. Asam linoleat dan asam arakidonat adalah dua asam lemak tak jenuh ganda yang paling umum ditemui pada epidermis maupun dermis (Paculová *et al*., 2024). Struktur kimia kolagen dan distribusi kolagen dalam tubuh ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Struktur kimia kolagen (A), Distribusi kolagen dalam tubuh (B) (Campos *et al*., 2023).

Kolagen berfungsi sebagai matriks atau bantalan pendukung yang sangat penting bagi kesehatan kulit dan menjadi faktor utama dalam mempertahankan kekencangan serta elastisitas. Seiring bertambahnya usia, produksi kolagen semakin menurun yang menyebabkan kulit mengalami proses penuaan seperti kulit keriput, yang disebabkan karena adanya aktivitas kolagenase. Penelitian Krizkovska *et al*., (2021) menunjukkan bahwa penghambatan aktivitas kolagenase dapat membantu mengurangi tanda-tanda penuaan kulit yang lebih terlihat dan signifikan, terutama keriput dan kehilangan elastisitas. Hal ini menunjukkan bahwa kolagen adalah target utama dalam penelitian *anti-aging* dan penghambatan kolagenase merupakan upaya dalam mempertahankan kekencangan kulit.

Kolagen tipe I adalah jenis kolagen yang paling dominan di kulit, mencakup sekitar 80%-90% dari seluruh kolagen kulit. Kolagen diproduksi oleh fibroblas, yang merupakan sel mesenkim yang terdapat terutama di dermis. Selain kolagen, fibroblas juga menghasilkan elastin, sejumlah protein flexibilities pada kulit, jaringan kulit meregang dan kemudian kembali ke bentuk semula, menjaga elastisitas dan ketahanan kulit (Reilly & Lozano, 2021). Meskipun kolagen memiliki peran penting dalam

menjaga kekencangan dan elastisitas kulit, keberadaan enzim kolagenase dapat mempengaruhi keseimbangan proses degradasi kolagen di dalam jaringan.

Kolagenase merupakan enzim proteolitik yang berperan dalam proses perombakan dan degradasi matriks ekstraseluler, yang penting untuk perkembangan organ secara fisiologis dan regenerasi jaringan. Enzim ini termasuk dalam kelompok matriks metalloproteinase (MMPs), yang disintesis dalam keadaan tidak aktif dan kemudian diaktifkan oleh aktivator tertentu. Selain itu, kolagenase berperan dalam pemecahan berbagai protein matriks dan non-matriks, seperti faktor pertumbuhan, yang dapat mempengaruhi pertumbuhan serta kelangsungan hidup sel (Silva *et al*., 2024). Penuaan kulit berhubungan dengan degradasi kolagen oleh aktivitas enzim MMP (matriks metalloproteinase) yang menyebabkan hilangnya elastisitas kulit dan pembentukan kerutan (Loo *et al*., 2023).

Kolagenase adalah enzim yang memecah kolagen, protein yang ditemukan di jaringan ikat kulit, tulang, dan jaringan lainnya. Kolagen membentuk 70-80% dari berat kering kulit dan merupakan komponen penting dari pendukung struktural kulit, dan degradasinya dapat menyebabkan hilangnya elastisitas kulit dan

berkembangnya kerutan (Srisuksomwong *et al*., 2023).

Kolagenase dikenal sebagai enzim hidrolase yang secara spesifik berfungsi memecah struktur triple helix kolagen melalui pemutusan ikatan peptida pada lokasi tertentu. Hidrolase bekerja dengan cara melakukan reaksi hidrolisis, yakni pemecahan ikatan kimia menggunakan molekul air, di mana atom H+ dan OH- dari air turut berperan dalam proses tersebut. Kolagenase juga dikenal dengan nama Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1), yang termasuk dalam kelompok metalloprotease. Enzim ini memiliki berat molekul sekitar 50–60 kDa dan memerlukan logam Zn sebagai kofaktor utama untuk aktivitasnya (Y. Wang et al., 2024).

Enzim proteolitik ekstraseluler dapat dikategorikan menjadi dua kelompok utama, yaitu metalloprotease, yang membutuhkan ion Zn^{2+} atau Ca^{2+} untuk mengaktifkan enzim dan protease serin, yang memiliki residu serin reaktif pada situs aktifnya. Kedua kelompok protease ini berperan dalam migrasi sel dengan cara mendegradasi protein matriks ekstraseluler, seperti kolagen, laminin, dan fibronektin. Kolagenase berkontribusi dalam berbagai proses fisiologis, mencakup remodeling jaringan dan penyembuhan luka. Sebagai enzim endopeptidase,

kolagenase secara khusus mendegradasi kolagen alami, yang merupakan komponen berserat utama jaringan ikat dengan struktur triple helix (Pientaweeratch *et al*., 2016).

Berbagai jenis zat, baik yang bersumber dari alam maupun hasil sintesis, telah terbukti memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas kolagenase. Zat-zat ini berperan penting dalam mencegah degradasi kolagen yang dipicu oleh enzim kolagenase, yang berkontribusi pada sejumlah kondisi fisiologis maupun patologis. Beberapa contoh zat tersebut meliputi senyawa fenolik dan flavonoid seperti asam rosmarinic dan asam caffeic yang dapat melindungi fibroblas kulit manusia dari biosintesis, sekresi, dan degradasi kolagen yang diinduksi paraben melalui pERK1/1, MMP1/2, dan TIMP1/2 (Matwiejczuk *et al*., 2020).

Mengukur aktivitas anti-kolagenase sangat penting karena enzim ini berperan langsung dalam degradasi kolagen, komponen utama kulit yang menjaga kekuatan dan elastisitas. Uji in vitro aktivitas anti-kolagenase membantu mengidentifikasi potensi senyawa bioaktif atau ekstrak tumbuhan dalam melindungi kolagen, sehingga mendukung efek *anti-aging*. Hasil pengujian ini menyediakan data penting tentang keamanan dan kemanjuran senyawa *anti-aging* dan dasar untuk

penelitian serta pengenalan formulasi ke pasar kosmetik untuk pengembangan formulasi kosmetik yang aman dan efektif (Cruz *et al*., 2023).

6. Metode Ekstraksi

Secara histokimia, ekstraksi senyawa bioaktif dapat didefinisikan sebagai prosedur pemisahan yang digunakan untuk perolehan dan pemurnian bahan tanaman, menjadikannya berguna dalam berbagai aplikasi. Penentuan teknik ekstraksi bergantung pada karakteristik bahan baku dan sifat senyawa yang diekstraksi. Ekstraksi adalah proses untuk mengekstrak senyawa kimia dari tumbuhan, di mana senyawa tersebut akan larut secara optimal dalam pelarut yang memiliki kesesuaian polaritas (Dewatikasari, 2020).

Beberapa metode ekstraksi dapat diterapkan meliputi maserasi, *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE), soxhlet, refluks, dan infusa. Berikut penjelasan terkait macam-macam metode ekstraksi.

a) Maserasi

Maserasi yaitu ekstraksi padat-cair yang dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut tertentu. Prosedur ini dimulai dengan memasukkan bahan padat berbentuk bubuk ke dalam wadah tertutup, kemudian ditambahkan pelarut yang dibiarkan selama periode tertentu, biasanya berkisar dari beberapa jam hingga

beberapa hari, sambil sesekali dihomogenkan. Waktu tersebut diperlukan agar pelarut dapat berdifusi lewat dinding sel dan melarutkan senyawa aktif yang terdapat pada bahan tumbuhan. Selama maserasi, pengadukan ringan sesekali dilakukan untuk mempermudah ekstraksi dengan meningkatkan difusi dan mencegah terbentuknya larutan pekat di permukaan bahan. Pengadukan ringan ini juga memastikan pelarut dapat terus berinteraksi dengan bahan, sehingga menghasilkan ekstraksi yang lebih optimal (Rasul, 2018).

b) *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE)

Ekstraksi berbantuan *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UEA) memanfaatkan energi ultrasound dan pelarut dalam mengekstrak senyawa dari tanaman. Ultrasound, gelombang mekanis dengan frekuensi >20 kHz, memicu kavitasi akustik sebagai mekanisme utama. Runtuhnya gelembung kavitasi menyebabkan pembentukan pori-pori dan gaya geser yang mempercepat pelepasan senyawa bioaktif dengan meningkatkan luas permukaan, penyerapan, dan perpindahan massa. UAE menawarkan keunggulan berupa efisiensi waktu dan energi, ekstraksi pada suhu rendah, serta menjaga kualitas ekstrak. Gelombang ultrasound menghasilkan gangguan pada jaringan

tanaman melalui gaya fisik yang terbentuk selama kavitasi akustik, sehingga mempercepat pelepasan senyawa yang dapat diekstraksi ke dalam pelarut dalam waktu singkat (Kumar *et al*., 2021).

c) Soxhlet

Ekstraksi Soxhlet adalah metode ekstraksi panas kontinu yang menggunakan alat khusus. Prinsip metode ini adalah simplisia dan pelarut ditempatkan di wadah terpisah, kemudian pelarut menguap melalui proses kondensasi dan bersentuhan dengan simplisia. Metode ini memiliki keunggulan karena membutuhkan volume pelarut yang lebih sedikit dibandingkan maserasi. Namun, terdapat beberapa kelemahan, seperti risiko paparan pelarut organik yang mudah terbakar dan berbahaya, serta potensi emisi zat beracun selama proses berlangsung. Penggunaan pelarut dengan kemurnian tinggi juga meningkatkan biaya. Selain itu, metode ini dianggap kurang ramah lingkungan. Metode ini ideal untuk sampel berbentuk padatan kering dan halus, tetapi efektivitasnya bergantung pada beberapa faktor, seperti suhu dan rasio pelarut terhadap sampel (Azwanida, 2015).

d) Refluks

Ekstraksi refluks disebut juga sebagai ekstraksi daur ulang pelarut adalah metode ekstraksi yang

dilakukan dalam jangka waktu tertentu pada titik didih pelarut. ekstraksi refluks memiliki banyak keunggulan termasuk waktu ekstraksi singkat serta pelarut yang lebih sedikit. Namun, ekstraksi ini juga memiliki kekurangan salah satunya yaitu senyawa yang diekstraksi memungkinkan terkontaminasi selama penguapan di suhu tinggi (Shi *et al*., 2022)

e) Infusa

Infusa adalah metode yang dilakukan pada simplisia dengan tekstur lunak, seperti daun dan bunga, menggunakan air sebagai pelarut di suhu 96–98°C selama 15–20 menit, dihitung sejak suhu mencapai 96°C (Yulinar & Suharti, 2023). Metode infusa dikenal efektif dalam mengekstraksi zat aktif atau metabolit sekunder dari tanaman, dengan prosedur yang relatif sederhana dan mudah dilakukan. Teknik ini menggunakan pemanasan dengan air sebagai pelarut untuk mengoptimalkan ekstraksi senyawa aktif yang bersifat polar (Leswana & Sianturi, 2024).

Di antara berbagai metode, *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) merupakan salah satu yang sering digunakan dalam penelitian. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) bekerja berdasarkan prinsip kavitasi akustik bekerja dengan merusak dinding sel

jaringan tanaman, sehingga memfasilitasi pelepasan senyawa bioaktif. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) didasarkan pada perambatan gelombang mekanis, yang dibentuk oleh serangkaian siklus yang didefinisikan sebagai kombinasi tekanan tinggi dan rendah.

Spektrum gelombang yang terlibat dalam *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) disebut gelombang ultrasonik dengan frekuensi gelombang di atas rentang suara (>20 kHz) dan di bawah gelombang mikro (hingga 10 MHz). Frekuensi yang lebih rendah, antara dari 20 hingga 100 kHz, berhubungan dengan efek fisik dan umumnya digunakan dalam teknik analisis non-destruktif. Efisiensi *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) dalam mengekstraksi senyawa fenolik terutama disebabkan oleh fenomena kavitasi akustik. Gelombang ultrasonik yang merambat melalui media cair menyebabkan kerusakan pada dinding sel tanaman, sehingga meningkatkan penetrasi pelarut dan melepaskan senyawa polifenol (Medina-Torres *et al*., 2017).

B. Unity of Science

Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan yang tersebar di berbagai wilayah, yang kekayaan hayatinya bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku produk yang

bermanfaat dalam kehidupan sehari-hari. Dalam pandangan Islam, segala ciptaan Allah, termasuk keragaman tumbuhan di sekitar kita, memiliki tujuan dan tidak ada yang sia-sia, sebagaimana tertulis dalam Al-Qur'an surat Sad ayat 27, sebagai berikut:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَآءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذٰلِكَ ظَنُّ الَّذِيْنَ كَفَرُوْا فَوَيْلٌ لِّلَّذِيْنَ كَفَرُوْا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

Artinya: "*Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan sia-sia. Itu anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang yang kafir itu karena mereka akan masuk neraka*" (Q.S. Sad, ayat 27).

Qur'an surah Sad ayat 27 menjelaskan bahwa penciptaan langit, bumi, dan segala sesuatu di antara keduanya tidaklah dilakukan dengan sia-sia atau tanpa tujuan. Dalam Tafsir al-Jalalayn, dijelaskan bahwa ayat ini menolak anggapan bahwa penciptaan tersebut terjadi secara main-main atau tanpa hikmah. Anggapan seperti itu hanyalah pandangan orang-orang kafir, khususnya penduduk Mekkah, yang pada akhirnya akan mendapat balasan berupa azab di neraka. Hal ini sejalan dengan Tafsir Quraish Shihab yang menyatakan bahwa penciptaan alam semesta tidaklah tanpa makna, dan anggapan bahwa semua itu sia-sia hanyalah sangkaan orang-orang kafir yang terbiasa mengambil keputusan

berdasarkan hawa nafsu. Oleh karena itu, mereka berhak menerima siksa yang pedih. Tafsir Al-Muyassar pun menegaskan bahwa Allah tidak menciptakan segala sesuatu tanpa hikmah atau bermain-main, prasangka semacam itu hanyalah berasal dari orang-orang kafir yang akan celaka karena kebodohan mereka dalam menilai kebesaran ciptaan-Nya. Mereka akan mendapat azab neraka di akhirat kelak bila mati dalam keadaan kufur dan berprasangka buruk kepada Allah (Ritonga & Nasri, 2021). Ketiga tafsir ini menegaskan bahwa setiap ciptaan Allah, termasuk tumbuhan seperti *Selaginella plana*, mengandung hikmah dan manfaat yang tidak boleh diremehkan.

Ayat di atas mengajarkan bahwa setiap ciptaan Allah, termasuk alam dan seluruh isinya, mempunyai tujuan dan manfaat. Tidak ada sesuatu pun yang diciptakan dengan sia-sia, bahkan tumbuhan dan makhluk-makhluk kecil yang mungkin tampak sepele. Dalam hal ini, tanaman seperti cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) merupakan salah satu bukti dari keragaman hayati yang telah Allah ciptakan dengan manfaat yang besar bagi kehidupan.

Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) menawarkan berbagai manfaat, termasuk sebagai bahan makanan, tanaman hias, dan untuk

keperluan kerajinan. Kegunaan *Selaginella* sebagai tanaman yang berpotensi sebagai salah satu tanaman obat alternatif didorong oleh keberadaan bahan-bahan bioaktif di dalamnya. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Genus *Selaginella* yang berasal dari pulau Jawa mengandung berbagai bahan bioaktif, seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, dan saponin (Chikmawati et al., 2012).

C. Kajian Penelitian yang Relevan

Tabel 2. 1 Kajian penelitian terdahulu yang relevan.

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
1.	Lee *et al*., (2022).	Amentoflavone-Enriched *Selaginella rossii* Protects against Ultraviolet- and Oxidative Stress-Induced Aging in Skin Cells.	Metode pengujian ekstrak *Selaginella rossii* yang diperkaya dengan amentoflavone dan menguji aktivitasnya pada sel kulit yang terpapar sinar ultraviolet (UV) dan stres oksidatif.	Hasil terbukti ekstrak *Selaginella rossii* yang kaya akan amentoflavone dalam melindungi sel kulit dari kerusakan akibat paparan UV dan stres oksidatif, yang membantu dalam pencegahan penuaan dini.	Penelitian ini berfokus pada eksplorasi potensi *anti-aging* spesifik dari spesies *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. melalui aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase, sementara penelitian Lee *et al*, (2022) berfokus pada spesies *Selaginella rossii* sebagai agen potensial *anti-aging*.

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
2.	Oulebsir *et al*., (2022).	Essential Oil of *Citrus aurantium L*. Leaves: Composition, Antioxidant Activity, Elastase and Collagenase Inhibition.	Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi minyak esensial dari daun *Citrus aurantium L.*. komposisinya dianalisis menggunakan GC-MS. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH, uji aktivitas elastase dan kolagenase menggunakan enzim spesifik.	Penelitian ini memberikan informasi terkait komposisi utama dari minyak esensial daun *Citrus aurantium* adalah limonene, linalool, dan β-pinene, menunjukkan aktivitas antioksidan signifikan serta kemampuan untuk menghambat enzim elastase dan kolagenase.	Penelitian ini berfokus pada spesies *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen potensial antioksidan serta anti-kolagenase, khususnya dalam bentuk ekstrak dan bukan minyak esensial. Sementara penelitian Oulebsir *et al*. (2022) menggunakan minyak esensial dari daun *Citrus aurantium*, analisis komposisi senyawa aktif dengan GC-MS

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
3.	Sutoyo *et al*., (2021).	Phytochemical screening, total flavonoid content, and total phenolic content of ethanol extract of the Indonesian Fern *Selaginella Plana*.	Penelitian ini dengan metode ekstraksi maserasi dengan etanol. Aktivitas antioksidan metode DPPH & FRAP. Penentuan Total Fenolik reagen *Folin-Ciocalteu* dan penentuan Total Flavonoid dengan reagen *aluminium chloride*.	Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol *S. plana* mengandung steroid, fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Kandungan fenolik rata-rata sebesar 36,36 mg GAE/g ekstrak kering dan flavonoid rata-rata adalah 29,08 mg QE/g ekstrak kering.	Penelitian ini berfokus pada identifikasi aktivitas biologis yang berfokus pada spesies *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen potensial *anti-aging* melalui mekanisme antioksidan dan anti-kolagenase, sementara penelitian Sutoyo *et al.*, (2021) mengidentifikasi berbagai senyawa aktif serta menilai aktivitas biologis dari ekstrak *S. plana.*

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
4.	Egra *et al*., (2021).	Antioxidant and Antimicrobial Activity: The Potency of *Selaginella intermedia* Leaves Against Oral Pathogen.	Metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol. Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan menggunakan metode DPPH dan aktivitas antimikroba diuji terhadap bakteri patogen termasuk *Streotococcus sobrinus* dan *Porphyromonas gingavalis* dengan metode difusi agar.	Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak *S. intermedia* mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 65% pada konsentrasi 100 ppm dan aktivitas antimikroba dengan nilai konsentrasi penghambatan minimum (MIC) 4 mg/ml terhadap *S. sobrinus.*	Penelitian ini mengidentifikasi aktivitas biologis yang berfokus pada *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen potensial *anti-aging* melalui mekanisme antioksidan dan anti-kolagenase, sementara penelitian Egra *et al*, (2021) mengidentifikasi aktivitas biologis *Selaginella intermedia* sebagai agen antioksidan & antimikrobia.

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
5.	Lei *et al*., (2021).	Homogenate-ultrasound-assisted ionic liquid extraction of total flavonoids from *Selaginella involven*: process optimization, composition identification, and antioxidant activity.	Metode *homogenate-ultrasound-assisted ionic liquid extraction (HUAIL)* untuk mengekstraksi total flavonoid dari *Selaginella involvens*. Aktivitas antioksidan metode DPPH, ABTS, dan FRAP.	Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak *S. involven* mengandung flavonoid serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. Ditemukan enam senyawa bioaktif dalam *S. involvens* termasuk amentoflavon, hinokiflavon, bilobetin, ginkgetin, isoginkgetin, dan heveaflavon.	Penelitian ini fokus dalam eksplorasi spesies baru yaitu *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. yang belum banyak dikaji memungkinkan adanya kandungan metabolit sekunder yang berbeda dengan metode ekstraksi UAE dan maserasi. Sementara penelitian Lei *et al*., (2021), fokus pada eksplorasi total flavonoid *S. involven* dengan metode HUAIL.

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
6.	Adnan *et al*., (2021).	Phytochemistry, Bioactivities, Pharmacokinetics and Toxicity Prediction of *Selaginella repanda* with Its Anticancer Potential against Human Lung, Breast and Colorectal Carcinoma Cell Lines.	Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen untuk mengeksplorasi komposisi fitokimia, aktivitas biologis, farmakokinetika, dan toksisitas dari ekstrak *Selaginella repanda*. Uji *in-vitro* dilakukan untuk menilai potensi anti kanker terhadap beberapa jenis sel kanker manusia.	Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak *S. repanda* mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas anti kanker signifikan terhadap sel kanker yang diuji. Penelitian ini menunjukkan profil farmakokinetika dan toksisitas yang rendah, sehingga *S. repanda* dianggap aman untuk aplikasi lebih lanjut.	Penelitian ini mengidentifikasi aktivitas biologis yang berfokus pada spesies *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen potensial *anti-aging* melalui mekanisme antioksidan dan anti-kolagenase, sementara penelitian Adnan *et al.*, (2021) mengidentifikasi aktivitas biologis *Selaginella repanda* sebagai agen anti kanker.

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
7.	Li *et al*.,(2020).	Anti-oxidant, Anti-inflammatory, and Wound Healing Activities of *Selaginella tamariscina* Leaf Extract.	Ekstraksi dilakukan menggunakan Ionic liquid digunakan sebagai pelarut utama, dengan bantuan gelombang mikro untuk meningkatkan efisiensi. Kuantifikasi Amentoflavone dengan HPLC.	Hasilnya menunjukkan bahwa n-butylpyridinium tetrafluoroborate ([Bpy]BF_4) menunjukkan kapasitas ekstraksi tertinggi di antara Ionic liquid yang berbeda dan dipilih sebagai yang optimal, yang menunjukkan rendemen AME dari *S. trachyphylla* sebesar 1,63 mg/g.	Penelitian ini mengeksplorasi aktivitas biologis (tidak hanya amentoflavone) yang berfokus pada spesies *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen potensial *anti-aging* sementara penelitian Li *et al.*, (2020) fokus pada isolasi dan optimasi ekstraksi amentoflavone pada *S. trachyphylla.*

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
8.	Eun *et al*., (2020).	Elastase/ Collagenase Inhibition Compositions of *Citrus unshiu* and Its Association with Phenolic Content and Anti-Oxidant Activity	Penelitian ini menggunakan ekstrak *Citrus unshiu* untuk mengukur aktivitas penghambatan enzim elastase dan kolagenase dan Uji fenolik total dan aktivitas antioksidan.	Ekstrak *Citrus unshiu* menunjukkan kemampuan menghambat elastase dan kolagenase yang signifikan, yang berkorelasi dengan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan.	Penelitian ini berfokus pada *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai sumber potensial *anti-aging* dengan senyawa bioaktif yang berbeda, seperti amentoflavone. sementara penelitian Eun *et al*, (2020) fokus terkait potensi *anti-aging* pada *Citrus unshiu* melalui kandungan fenoliknya.

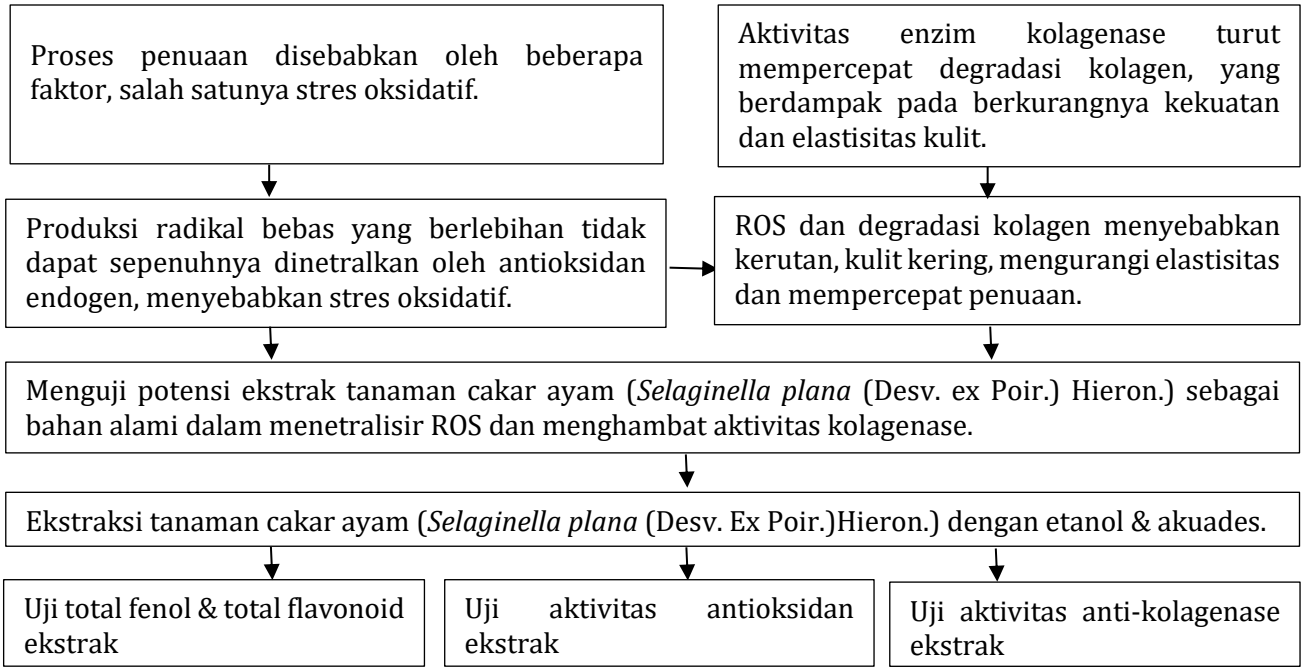
Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
9.	Maria *et al*., (2020).	Methanol and ethyl acetate extracts of red fruit (*Pandanus conoideus Lam*.) short-red showed high of phenolic and radicals scavenging activities.	Metode ekstraksi dengan pelarut metanol dan etil asetat untuk memperoleh ekstrak dari buah merah (*Pandanus conoideus*). Aktivitas antioksidan metode DPPH dan kemampuan mencegah radikal bebas menggunakan metode *Folin-Ciocalteu.*	Ekstrak metanol dan etil asetat buah merah memiliki kandungan fenolik yang tinggi dan menunjukkan kemampuan menangkal radikal bebas yang signifikan, menunjukkan potensi sebagai sumber antioksidan.	Penelitian ini menguji potensi ekstrak etanol *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen *anti-aging* dengan mekanisme antioksidan dan anti-kolagenase. Sementara penelitian Maria *et al.,* (2020) menggunakan pelarut metanol dan etil asetat untuk memperoleh ekstrak dari buah merah (*Pandanus conoideus*).

Tabel 2.1. Lanjutan Kajian penelitian terdahulu yang relevan

No.	Penulis	Judul	Metode	Hasil	*Gap Research*
10.	Mawarni *et al*., (2020).	Antioxidant and elastase inhibitor potential of petal and receptacle of rose flower (*Rosa damascena*).	Metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol untuk memperoleh kelopak & reseptakulum bunga *Rosa damascena*. Aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS, total fenolik dengan metode *Folin-Ciocalteu*, total flavonoid dengan metode *aluminium chloride* & aktivitas elastase dengan enzim elastase.	Hasil menunjukkan ekstrak kelopak memiliki kandungan fenolik & flavonoid lebih tinggi dibanding reseptakulum. Nilai (IC_{50}) dalam uji reduksi ABTS adalah 4,46 ± 0,34 µg/mL (RPE) dan 15,49 ± 0,23 µg/mL (RRE). Hasil uji anti-elastase adalah 17,51 ± 1,47 µg/ mL (RPE) dan 58,91 ± 2,31 µg/mL (RRE).	Penelitian ini menguji potensi ekstrak *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. sebagai agen *anti-aging* dengan menargetkan mekanisme anti-kolagenase. Sementara penelitian Mawarni *et al*., (2020) fokus pada bioaktivitas *Rosa damascena* dengan fokus pengujian penghambatan enzim elastase.

D. Kerangka Berpikir



Gambar 2. 4 Bagan Kerangka Berpikir

E. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. H_0 : Tidak terdapat perbedaan signifikan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

   H_1 : Terdapat perbedaan signifikan aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

2. H_0 : Tidak terdapat perbedaan signifikan aktivitas anti-kolagenase antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sehingga keduanya tidak menunjukkan potensi berbeda sebagai agen potensial *anti-aging*.

   H_1 : Terdapat perbedaan signifikan aktivitas anti-kolagenase antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sehingga keduanya menunjukkan potensi berbeda sebagai agen potensial *anti-aging*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Karakteristik Terpadu Umar Anggara Jenie di Pusat Riset Teknologi Pangan Badan Riset dan Inovasi Nasional (PRTPP BRIN) Playen, Gunung Kidul yang beralamatkan di JL. Jogja-Wonosari, Kec. Playen, Gading, Playen, Gunung Kabupaten Gunung Kidul, Daerah Istimewa Yogyakarta, 55861. Penelitian dilaksanakan mulai Januari-Maret 2025.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi alat-alat gelas (erlenmeyer, corong kaca, cawan petri, gelas beaker, botol reaksi gelap, spatula kaca, batang pengaduk, wadah sampel kaca (vial), gelas ukur, labu evaporator), *rotary evaporator*, mikropipet (5 ml,100-1000, 20-200, 10-100), rak tabung reaksi, rak mikro tip, rak mikrotube, spatula besi, *micro plate* 96 well, neraca analitik, vortex, oven, oven vacum, panci double boiler pot, spindown, sendok besi, corong buchner, blender, *sonicator*, *waterbath*, *vortex*, *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis dan lemari asam.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi

simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.), kertas saring, kain hitam, plastik klip, es batu, aluminium foil, wrap seal, etanol 70%, etanol 96% p.a., akuades waterone, air AC, metanol, *dimethylsulfoxide* (DMSO p.a.), enzim kolagenase, 1,10 phenanthroline, buffer tricin pH 7,5, substrat (FALGPA 2 mM), tip kuning, biru dan putih, tube, *microplate* sekali pakai, *2,2-diphenyl-1 picrylhydrazy* (DPPH), Na_2CO_3 20%, asam galat, reagen *Folin-Ciocalteu*, kuersetin, KCH_3COO 1M, $AlCl_3$ 10%, dan *L-ascorbic acid*.

C. Metode

1. Determinasi Tanaman

Sampel tanaman cakar ayam segar yang diperoleh dari pengepul yang berlokasi di Kabupaten Pangandaran, Jawa Barat melalui platform *e-commerce*. Selanjutnya, dilakukan determinasi di Kebun Koleksi Biofarmaka, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Tujuannya adalah untuk memastikan kebenaran tanaman cakar ayam yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang digunakan merupakan tanaman muda dalam kondisi utuh, meliputi akar, batang, dan daun. Batangnya menjalar secara horizontal, berwarna hijau

kecokelatan dengan panjang sekitar 21–30 cm, serta memiliki ruas tempat tumbuhnya akar serabut. Daunnya tersusun rapat dan majemuk, berbentuk menyerupai cakar ayam, berwarna hijau segar, dengan ujung meruncing dan tersusun menyirip secara simetris. Ukuran kecil dan kesegaran daun mengindikasikan bahwa tanaman berada pada fase muda.

2. Persiapan dan Pengolahan Sampel

Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) segar dibersihkan dan dipisahkan dari tanah yang menempel pada akarnya terlebih dahulu menggunakan air mengalir, kemudian dibilas sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun, batang maupun pada akarnya. Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebanyak 6,71 kg yang telah bersih kemudian ditiriskan lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 8 jam dengan pengecekan secara berkala hingga kadar airnya diperkirakan rendah, ditunjukkan oleh berat kering yang tidak berubah saat dilakukan pengecekan ulang secara berkala. Sampel kemudian diblender hingga didapatkan simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang siap diekstraksi.

3. Proses Ekstraksi Sampel

Simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) diektrasi secara terpisah menggunakan pelarut etanol 70% dan akuades, masing-masing dengan perbandingan 1:10. Penggunaan 2 jenis pelarut ini bertujuan dalam eksplorasi efektivitas masing-masing pelarut dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dengan polaritas yang berbeda. Pembuatan ekstrak etanol dilakukan selama 1 jam dengan metode *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) menggunakan bantuan gelombang ultrasonik, kemudian dimaserasi selama 1x24 jam. Hasil sonikasi dan maserasi disaring menggunakan corong Buchner selanjutnya ekstrak disaring kembali dengan kertas saring, kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 96 bar. Hasil evaporasi berupa ekstrak kental yang kemudian dituangkan di atas cawan petri lalu dikeringkan dalam oven hingga kering dengan suhu 40 °C dengan tujuan menghilangkan sisa pelarut secara tuntas, sehingga didapat ekstrak murni yang beratnya stabil.

Pembuatan ekstrak akuades dilakukan dengan metode infundasi menggunakan panci double boiler. Panci pertama diisi air dan dipanaskan hingga titik didih

mencapai 90–100 °C. Setelah itu, panci kedua yang berisi campuran simplisia dan akuades dimasukkan ke dalam panci pertama, lalu dilakukan proses infundasi selama 15 menit. Hasil infundasi kemudian disaring menggunakan saringan selanjutnya disaring kembali dengan kain saring bersih, ekstrak dituangkan di atas cawan petri lalu dikeringkan dengan bantuan oven vacum dengan suhu 40 °C dengan tujuan menghilangkan pelarut secara tuntas, sehingga didapat ekstrak murni yang beratnya stabil.

4. Pengujian Fenolik Total Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Pengujian Fenolik Total (TPC) dilakukan dengan tujuan untuk mengukur jumlah senyawa fenolik dalam ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.), yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan. Penentuan kadar fenolik dilakukan berdasarkan adaptasi metode Nisa *et al*., (2017)**.** Sampel uji diencerkan dengan konsentrasi 20 mg/mL (20.000 ppm) dalam pelarut metanol untuk setiap sampel ekstraknya. Sampel diambil sebanyak 50 µL dan ditambahkan akuades sebanyak 750 µL hingga volumenya 800 µL. Selanjutnya, ditambahkan 50 µL reagen *Folin-Ciocalteu* pekat dan dihomogenkan dengan *vortex*. Sampel diinkubasi selama 8 menit suhu ruang

dalam keadaan gelap. Setelah inkubasi, ditambah dengan 150 µL Na_2CO_3 20%.

Larutan blanko merupakan campuran 50 µL metanol, 750 µL akuades, 50 µL reagen *Folin-Ciocalteu* pekat, kemudian diinkubasi selama 8 menit suhu ruang dalam keadaan gelap. Setelah inkubasi, ditambah dengan 150 µL Na_2CO_3 20%. Sampel dan blanko dihomogenkan dengan *vortex* lalu diinkubasi di suhu ruang dalam tempat gelap selama 2 jam. Selanjutnya 200 µL larutan sampel dimasukkan ke dalam *hole microplate* dengan 3 kali pengulangan. Absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenolik total ditentukan dengan kurva standar asam galat dengan konsentrasi 0, 80, 100, 150, 200, 250 dan 300 ppm yang diperoleh dengan cara mengencerkan larutan induk asam galat 1000 ppm (Supriningrum *et al*., 2020). Total fenol dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang diukur, kemudian dibaca dari kurva standar. Hasilnya dinyatakan sebagai *gallic acid equivalent* (GAE) dalam satuan mg/g dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Iskandar & Ramdhan, 2020):

$$\text{GAE} = \text{c} \times \frac{v}{m} \times \text{FP}$$

Keterangan:

c = konsentrasi total fenol dari kurva standar asam galat (mg/L), diperoleh dari hasil pembacaan absorbansi sampel yang disesuaikan dengan kurva standar asam galat.

v = volume larutan ekstrak (L) yang direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu.

m = berat ekstrak yang dilarutkan (g).

FP = Faktor pengenceran untuk menyesuaikan hasil agar mewakili kadar fenolik dari ekstrak sebelum diencerkan.

5. Pengujian Flavonoid Total Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Pengujian Flavonoid Total (TFC) dilakukan dengan tujuan untuk mengukur jumlah senyawa fenolik dalam ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.), yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan. Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan adaptasi metode Nisa *et al*., (2017). Sampel uji diencerkan dengan konsentrasi 20 mg/mL (20.000 ppm) dalam pelarut metanol untuk setiap sampel ekstraknya. Diambil sebanyak 10 µL sampel dari masing-masing ekstrak dan blanko, kemudian ditambahkan sebanyak 60 µL metanol, 10 µL larutan $AlCl_3$ 10%, 120 µL akuades dan 10 µL larutan

KCH_3COO 1 M, selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Inkubasi di suhu ruang dalam kondisi gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis pada panjang gelombang 415 nm dengan 3 kali pengulangan. Kadar flavonoid total ditentukan dengan kurva standar quercetin dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 dan 600 ppm yang diperoleh dengan cara mengencerkan larutan induk quercetin 1000 ppm (Kurniawati *et al*., 2024). Penentuan total flavonoid dinyatakan sebagai *quercetin equivalent* (QE) (mg/g) dengan rumus:

$$QE = c \times \frac{v}{m} \times FP$$

Keterangan:

c = konsentrasi total flavonoid dari kurva standar quercetin (mg/L), diperoleh dari hasil pembacaan absorbansi sampel yang disesuaikan dengan kurva standar quercetin.

v = volume larutan ekstrak (L) yang direaksikan dengan reagen Aluminium klorida ($AlCl_3$).

m = berat ekstrak yang dilarutkan (g).

FP = Faktor pengenceran untuk menyesuaikan hasil agar mewakili kadar flavonoid dari ekstrak sebelum diencerkan.

6. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH untuk mengukur kemampuan ekstrak cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dalam menetralisir radikal bebas DPPH. Metode DPPH digunakan karena memiliki beberapa keunggulan, di antaranya adalah metode pengujian yang sederhana, mudah, cepat serta kebutuhan sampel yang relatif kecil. Perubahan warna yang terjadi, dari ungu menjadi kuning, menunjukkan intensitas aktivitas antioksidan, yang berbanding lurus dengan kemampuan senyawa tersebut dalam meredam radikal bebas (Rahmawati *et al*., 2016).

a. Pembuatan Larutan DPPH (2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl)

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg menggunakan tabung reaksi gelap, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan DPPH kemudian dihomogenkan dengan cara di *vortex* dan disimpan dalam tempat gelap.

b. Persiapan Sampel dan Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

Larutan stok sampel dengan konsentrasi 50

mg/mL (50.000 ppm) dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam DMSO 100% sebanyak 1 mL. Larutan sampel stok tersebut kemudian dibuat *work solution* (ws) sampel dengan konsentrasi 10 mg/mL dalam metanol, diencerkan kembali dalam metanol ke berbagai seri konsentrasi yaitu 80, 400, 800, 1200, 1600 ppm. Larutan standar dengan stok konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang asam askorbat sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam metanol sebanyak 1 mL. Larutan sampel stok tersebut kemudian dibuat *work solution* (ws) sampel dengan konsentrasi 50 ppm, kemudian diencerkan kembali ke berbagai seri konsentrasi yaitu 0, 2,5, 5, 7,5, 10 dan 12,5 ppm.

c. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan sampel dan larutan asam askorbat dengan berbagai seri konsentrasi di masukan ke dalam *microplate* sebanyak 80 µL. Larutan DPPH sebanyak 20 µL ditambahkan ke dalam *microplate*, kemudian *microplate* diinkubasi selama 30 menit di suhu ruang dalam ruang gelap. Setelah masa inkubasi selesai, sampel diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis di gelombang 517 nm.

d. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Dari hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan larutan blanko, maka dapat diperoleh nilai persentase inhibisi (% inhibisi). Cara untuk menghitung nilai persen inhibisi (% inhibisi) sebagai berikut.

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{abs.blangko - abs.sampel}{abs.blangko} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan perhitungan nilai % inhibisi menggunakan persamaan regresi linear melalui persamaan *y = ax + b* (Syahara & Vera, 2020). Kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa ditunjukkan melalui nilai IC_{50}, di mana semakin rendah nilai IC_{50}, maka semakin kuat kemampuan senyawa tersebut dalam menetralisir radikal bebas. Kategori aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kategori kekuatan aktivitas antioksidan (Seberang *et al*., 2021).

Kategori	Konsentrasi (ppm)
Kuat	50-100
Sedang	101-250
Lemah	250-500
Sangat lemah	> 500

7. Uji Aktivitas Anti-Kolagenase Ekstrak Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana (*Desv. ex Poir.) Hieron.)

Pengujian aktivitas anti-kolagenase dilakukan untuk mengukur kemampuan ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dalam menghambat aktivitas enzim kolagenase, yang berfungsi untuk mendegradasi kolagen dalam jaringan. Pengujian anti-kolagenase dilakukan berdasarkan adaptasi metode Alipour *et al*., (2019) & Wulandari *et al*., (2025). Larutan stok sampel dengan konsentrasi 50 mg/mL (50.000 ppm) dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 50 mg dan dilarutkan ke dalam DMSO 100% sebanyak 1 mL. Larutan sampel stok tersebut kemudian dibuat *work solution* (ws) sampel dengan konsentrasi 4 mg/mL dalam buffer tricin pH 7,5, diencerkan kembali dalam buffer tricin pH 7,5 ke berbagai seri konsentrasi yaitu 100, 500, 1000 dan 2000 ug/mL. Larutan standar 1,10 phenanthroline sebagai kontrol positif dibuat dengan konsentrasi 10 mM. Larutan sampel dan larutan standar diambil sebanyak 175 µL dan ditambahkan 35 µL enzim kolagenase (0,01 mU/µL) hingga total volumenya 210 µL, kemudian di homogenkan dengan *vortex* lalu di *spindown*. Selanjutnya, campuran reaksi ditambahkan

ke dalam *well* pada *microplate* sebanyak 60 µL dengan 3 kali pengulangan dan diinkubasi selama 15 menit di suhu ruang dalam keadaan ruang gelap. Selanjutnya, ditambahkan 40 µL substrat berupa N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA 2 mM) dan di goyang secara perlahan selama 5 menit. Absorbansi sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 345 nm di setiap menit 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60. Aktivitas enzim kolagenase dihitung berdasarkan perubahan absorbansi (Δabs) per satuan waktu dengan menggunakan rumus *Collagenase Activity*. Nilai ini menggambarkan tingkat aktivitas enzim dalam sistem reaksi, dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$Collagenase\ Activity = \left(\frac{\Delta abs.sampel}{\Delta T}\right) \times \frac{\text{volume reaksi (mL)} \times \text{df (1)}}{0{,}53 \times \text{volume enzim (mL)}} \times 100$$

Keterangan:

Δabs = Perubahan absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 345 nm.

ΔT = Selisih waktu pengukuran absorbansi (menit).

Volume reaksi = Total volume reaksi enzim-substrat dalam satu well (mL).

df = Fakor pengenceran sampel (jika tidak diencerkan, maka df = 1).

0,53 = Koefisien ε (epsilon) FALGPA = 0,53 $mM^{-1}.cm^{-1}$.

Volume enzim = Volume kolagenase yang digunakan dalam reaksi (mL).

Selanjutnya, persentase penghambatan aktivitas enzim oleh sampel dihitung menggunakan rumus *Collagenase Inhibitory Activity*, yaitu dengan membandingkan aktivitas enzim pada kontrol dan sampel. Perhitungan ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan sampel dalam menghambat kerja enzim kolagenase, dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\%\ Inhibisi = \frac{\Delta abs.kontrol - \Delta abs.sampel}{\Delta abs.kontrol} \times 100$$

8. Analisis Data

Analisis data hasil pengujian dianalisis dengan deskriptif dan statistik GraphPad Prism (versi 10.4.1, GraphPad Software) menggunakan uji T (Independent T-test) untuk membandingkan hasil dari dua ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) terhadap pengujian yang dilakukan dengan tingkat perbedaan signifikan ditetapkan sebagai $p < 0,05$ (Putri et al., 2022). Teknik ini memungkinkan untuk melihat apakah terdapat perbedaan signifikan di antara kedua ekstrak yang diuji.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Hasil Determinasi Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Tanaman cakar ayam yang digunakan dalam penelitian ini telah melalui proses determinasi di Kebun Koleksi Biofarmaka Soetarman, Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah dan diidentifikasi sebagai *Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron. yang termasuk ke dalam suku Selaginellacea (Lampiran 1).

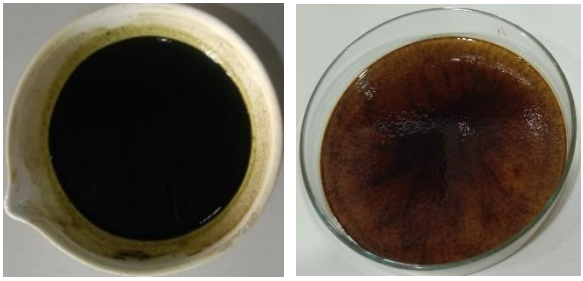
2. Ekstraksi Tanaman Cakar Ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.)

Ekstraksi tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan dengan menggunakan pelarut dan metode yang berbeda. Pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut etanol 70% dengan dua metode kombinasi *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) dan maserasi selama 24 jam. Selanjutnya, ekstraksi menggunakan pelarut akuades dilakukan dengan metode infundasi, yaitu proses

pemanasan pada suhu 90°C selama 15 menit (dihitung setelah suhu mencapai 90°C) dengan sesekali pengadukan. Hasil rendemen dari ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Sementara Ekstrak kental etanol 70% dan akuades yang diperoleh berwarna hijau tua pekat dan hijau tua keruh, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Tabel 4.1 Rendemen hasil ekstraksi.

Sampel	**Berat awal (g)**	**Berat akhir (g)**	**Rendemen (%)**	**Warna**
Ekstrak Etanol 70%	100	9,71	9,71	Hijau tua pekat
Ekstrak Akuades	50	11,15	22,30	Hijau tua keruh



(a) (b)

Gambar 4.2 Ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). (a) Ekstrak etanol 70% (SE 70) dan (b) Ekstrak akuades (SW).

Berdasarkan Tabel 4.1 hasil rendemen yang diperoleh dari dua jenis pelarut menunjukkan berat berbeda. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% terhadap 100 g simplisia menghasilkan berat ekstrak sebesar 9,71 gram, dengan rendemen sebesar 9,71%. Sementara itu, ekstraksi menggunakan akuades terhadap 50 g simplisia menghasilkan berat ekstrak sebesar 11,15 g dengan rendemen sebesar 22,30%. Perbedaan berat simplisia tidak memengaruhi perbandingan rendemen, karena nilai dihitung dalam persen(%) terhadap berat awal simplisia.

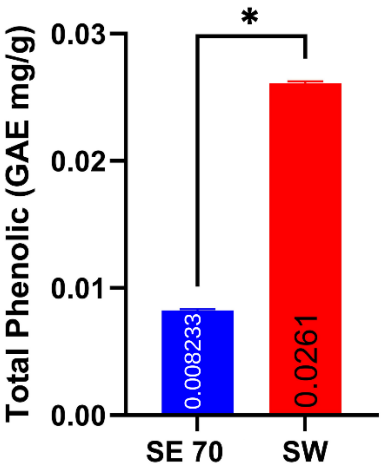
3. Pengujian Fenolik Total

Pengujian fenolik total dilakukan menggunakan *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis dengan panjang gelombang 765 nm. Nilai absorbansi dari sampel di ukur dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Penentuan kandungan fenolik ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil kadar fenolik total ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Sampel	Fenolik (mg GAE/g ekstrak)
Ekstrak Etanol 70%	0.0082 ± 0.00012
Ekstrak Akuades	0.0261 ± 0.00017

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4.2 hasil penetapan kadar fenolik total masing-masing jenis pelarut menunjukkan hasil yang berbeda. Kadar fenolik total ekstrak etanol 70% memiliki kadar fenolik sebesar 0.0082 mg GAE/g, sedangkan ekstrak akuades memiliki kadar fenolik sebesar 0.0261 mg GAE/g**.** Hasil penetapan kadar fenolik total dari kedua ekstrak tersebut, menunjukkan bahwa ekstrak akuades mengandung senyawa fenolik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70%. Perbedaan kadar senyawa fenolik antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) juga diperkuat melalui analisis statistik menggunakan uji T (Independent T-test) yang dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Diagram batang perbandingan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Hasil analisis uji T (Independent T-test) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0.05$) secara statistik antara kadar total fenolik pada ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW). Ekstrak akuades (SW) memiliki kadar fenolik yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% (SE 70).

4. Pengujian Flavonoid Total

Pengujian flavonoid total dilakukan menggunakan *microplate reader* Multiskan GO Spektrometer UV/Vis panjang gelombang 415 nm. Nilai absorbansi dari

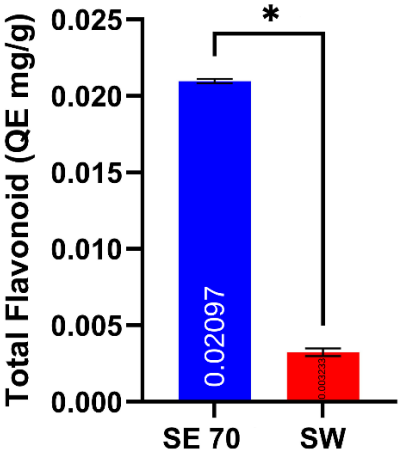
sampel di ukur dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Penentuan kandungan flavonoid pada ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil kadar flavonoid ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Sampel	Flavonoid (mg QE/g ekstrak)
Ekstrak Etanol 70%	0.02097 ± 0.00015
Ekstrak Akuades	0.00323 ± 0.00026

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4.3 hasil penetapan kadar flavonoid total pada masing-masing jenis pelarut menunjukkan hasil yang berbeda. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% memiliki kadar flavonoid sebesar 0.02097 mg QE/g, sedangkan ekstrak akuades memiliki kadar flavonoid sebesar 0.00323 mg QE/g**.** Hasil penetapan kadar flavonoid total dari kedua ekstrak tersebut, menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% mengandung senyawa flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak akuades. Perbedaan kadar senyawa flavonoid antara ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) juga

diperkuat melalui analisis statistik menggunakan uji T (Independent T-test) yang didapat dilihat pada Gambar 4.3.

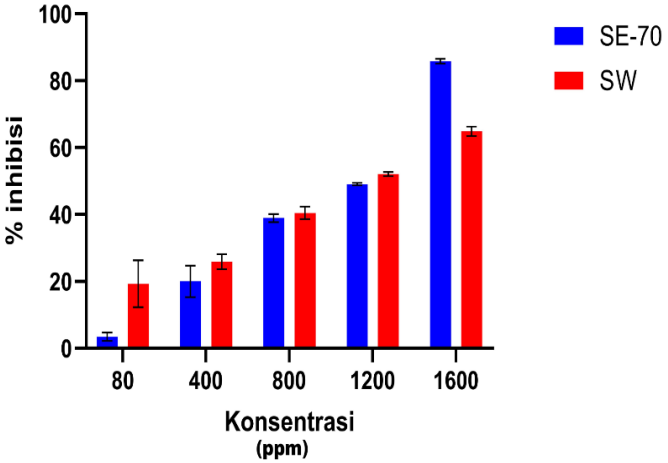


Gambar 4.3 Diagram batang perbandingan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

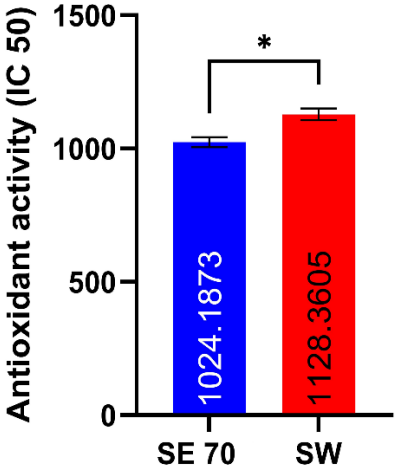
Hasil analisis uji T (Independent T-test) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0.05$) secara statistik antara kadar total flavonoid pada ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW). Ekstrak etanol 70% (SE 70) memiliki kadar flavonoid yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan ekstrak akuades (SW).

5. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl*) dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dari sampel di ukur menggunakan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil analisis uji T (Independent T-test) aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) menunjukkan adanya beda nyata dengan nilai sig ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan pada kedua jenis sampel ekstrak yang dapat dilihat pada Gambar 4.5. Selain itu, hasil perbandingan berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% dan akuades dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Diagram batang aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).



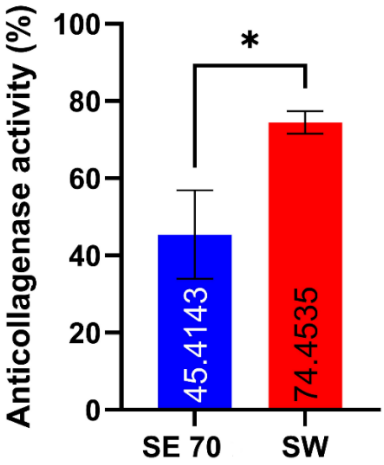
Gambar 4.5 Diagram batang perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Hasil analisis uji T (Independent T-test) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% (SE 70) memiliki nilai IC_{50} sebesar 1024.19 ppm, lebih rendah dibandingkan ekstrak akuades (SW) yaitu sebesar 1128.36 ppm. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan, keduanya termasuk dalam kategori lemah (IC_{50} > 500 ppm) (Seberang *et al*., 2021). Perbedaan antara kedua ekstrak tersebut terbukti beda nyata dengan nilai $p < 0.05$, menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan yang secara signifikan lebih baik dibandingkan ekstrak akuades.

6. Pengujian Aktivitas Anti-kolagenase

Pengujian aktivitas anti-kolagenase ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan dengan menggunakan metode Manual (standar) dengan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 410 nm. Nilai absorbansi dari sampel di ukur menggunakan pengulangan sebanyak 3 kali berdasarkan pembacaan nilai absorbansi pada menit ke-10 dan ke-40. Berdasarkan hasil analisis uji T (Independent T-test) aktivitas anti-kolagenase terhadap ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.)

Hieron.) menunjukkan adanya beda nyata dengan nilai sig ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas anti-kolagenase yang signifikan pada kedua jenis sampel ekstrak yang dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Diagram batang perbandingan aktivitas anti-kolagenase ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW) tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Hasil analisis uji T (Independent T-test) menunjukkan bahwa ekstrak akuades (SW) memiliki nilai % inhibisi sebesar 74.4535% lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% (SE 70) yang sebesar 45.4143%. Perbedaan antara kedua ekstrak tersebut terbukti beda nyata dengan nilai $p < 0,05$, yang menunjukkan bahwa ekstrak akuades (SW) memiliki

aktivitas anti-kolagenase yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% (SE 70).

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang digunakan sebagai bahan penelitian diperoleh dari pengepul yang berlokasi di Kabupaten Pangandaran, Jawa Barat melalui platform *e-commerce*. Sebelum masuk ke tahap ekstraksi, tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang akan digunakan dilakukan determinasi tanaman terlebih dahulu untuk memastikan kesesuaian spesiesnya. Tujuan determinasi tanaman ialah menjamin keaslian tanaman yang dijadikan sampel penelitian serta meminimalkan risiko kesalahan dalam proses pengambilan bahan, termasuk mencegah tercampurnya tanaman target dengan jenis tanaman lain (Fadillah *et al*., 2024). Hasil determinasi tanaman menyatakan bahwa tanaman tersebut adalah tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

2. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan dengan melewati sejumlah tahapan. Tahapan dalam pembuatan simplisia mencakup: pengumpulan bahan baku, proses penyortiran, pencucian, pengeringan, penghalusan, serta penyimpanan. Proses pembuatan simplisia diawali dengan tahapan pengumpulan bahan baku, yang dilakukan melalui pemanenan langsung atau dengan memperoleh bahan segar dari pengepul yang menjualnya melalui platform *e-commerce*. Bahan baku segar berupa tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) sebanyak 6.71 kg tersebut berasal dari wilayah di Kabupaten Pangandaran, Jawa Barat. Tahap selanjutnya, tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan penyortiran untuk dipisahkan dari kontaminan dan komponen tanaman lain yang tidak diperlukan. Kontaminan yang dimaksud meliputi tanah, kerikil, gulma atau rumput liar, tanaman lain yang sejenis, bagian yang telah rusak atau membusuk, serta bagian tanaman yang memang tidak digunakan. Proses ini bertujuan guna mempertahankan kemurnian simplisia dan mengurangi risiko kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses pengolahan selanjutnya (Pangondian *et al*., 2023).

Air bersih yang mengalir digunakan dalam tahap pencucian bertujuan dalam mencegah kotoran yang sudah terangkat dan lepas agar tidak menempel kembali (Aulia *et al*., 2024). Selanjutnya, dilakukan penirisan guna mengurangi atau menghilangkan sisa air pada permukaan daun, batang maupun pada akar tanaman dan dilakukan segera setelah proses pencucian (Kurniawati *et al*., 2023). Tahap pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti pengeringan dengan paparan langsung sinar matahari, pengeringan di bawah sinar matahari yang ditutup kain hitam serta pengeringan menggunakan oven (Herawati *et al*., 2025).

Pengeringan simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dalam penelitian ini dilakukan dengan bantuan oven dengan suhu 40°C selama 8 jam. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam simplisia, sehingga dapat mencegah kerusakan, menghindari kontaminasi mikroba, serta memperpanjang masa simpan simplisia (Alviola *et al*., 2023). Pemilihan metode pengeringan menggunakan oven karena lebih efisien, menghasilkan panas yang merata dan terkontrol, tidak dipengaruhi oleh kondisi cuaca, serta mampu mempertahankan kualitas produk akhir

dengan lebih baik (Dhanang *et al*., 2023). Penggunaan suhu 40°C dalam proses pengeringan oven saat pembuatan simplisia bertujuan untuk menjaga kualitas bahan baku dengan meminimalkan kerusakan senyawa aktif akibat paparan suhu tinggi. Suhu pengeringan yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi atau kerusakan senyawa aktif yang terkandung dalam bahan baku dan berpotensi menurunkan mutu simplisia karena komponen-komponen yang terkandung di dalamnya mengalami kerusakan akibat panas (Sembiring *et al*., 2022).

Penghalusan simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dilakukan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia. Penghalusan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia, sehingga selama proses ekstraksi berlangsung, pelarut dapat dengan mudah menembus secara maksimal dan melarutkan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam simplisia (Shobah *et al*., 2023). Tahap penghalusan menghasilkan total simplisia sebesar 1,30 kg. Serbuk simplisia disimpan dalam plastik klip tertutup yang dilengkapi dengan *silica gel pack*. Penggunaan *silica gel pack* bertujuan untuk menyerap kelembapan udara di dalam kemasan, sehingga

mencegah pertumbuhan jamur pada serbuk simplisia dan memperpanjang masa simpannya (Rizkuloh *et al*., 2023).

3. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

a. Ekstraksi dengan Pelarut Etanol 70%

Ekstraksi dengan pelarut etanol 70% dilakukan dengan dua metode, yaitu *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) dan maserasi. Penggunaan 2 metode kombinasi ini dilakukan dalam meningkatkan efisiensi serta efektivitas proses ekstraksi senyawa bioaktif dari sampel. Metode *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk menghasilkan kavitasi akustik di dalam pelarut, sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh sangat baik dan prosesnya berlangsung dalam waktu yang singkat (Yang *et al*., 2025).

Metode maserasi efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dari bahan alam, karena mampu menimbulkan kerusakan struktur dinding dan membran sel tanaman. Kondisi ini menciptakan perbedaan tekanan osmotik yang mendorong terjadinya pelarutan metabolit sekunder ke dalam pelarut organik (Pribadi *et al*., 2024). Pemilihan

pelarut etanol pada proses ekstraksi ini dikarenakan sifat polaritasnya yang memungkinkan untuk ekstraksi berbagai senyawa bioaktif, baik polar maupun non-polar, secara efisien. Selain itu, etanol juga mudah di peroleh, efisiensi dalam ekstraksi, serta keamanannya untuk lingkungan (Nafiisah *et al*., 2024).

Konsentrasi etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi memiliki pengaruh signifikan pada hasil ekstrak yang dapat diambil dari bahan tanaman. Dalam penelitian ini, digunakan etanol 70% karena konsentrasi tersebut dianggap paling efektif untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder. Efektivitas ini disebabkan oleh kandungan air dalam etanol 70% yang masih cukup tinggi (30%). Kandungan air tersebut membantu melarutkan senyawa polar, sementara etanol melarutkan senyawa non-polar, sehingga menghasilkan ekstraksi yang lebih menyeluruh (Mus *et al.,* 2023). Hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% terlebih dahulu disaring menggunakan kain putih yang baru dan bersih untuk memisahkan ampas kasar. Filtrat hasil penyaringan awal kemudian disaring ulang dengan kertas saring guna memperoleh hasil yang lebih jernih, sebelum

akhirnya dilakukan proses pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 96 bar hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh dari proses evaporasi kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri lalu dikeringkan menggunakan *oven vacuum* pada suhu 40°C. Proses pengeringan ini bertujuan untuk menguapkan sisa pelarut secara menyeluruh, sehingga dihasilkan ekstrak murni dengan bobot yang stabil. Seanyak 9.71 g ekstrak kental diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan untuk penentuan persen rendemen. Rendemen yang diperoleh pada ekstraksi etanol 70% yaitu 9.71%.

Nilai rendemen berkaitan dengan keberhasilan pelarut dalam mengekstraksi senyawa aktif yang terkandung pada tumbuhan, di mana semakin tinggi nilai rendemen ekstrak, menunjukkan semakin banyaknya komponen bioaktif yang berhasil diekstraksi (Diah *et al*., 2025). Rendemen ekstrak etanol 70% menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan ekstrak akuades. Perbedaan ini disebabkan oleh sifat semi-polar etanol yang lebih selektif terhadap senyawa bioaktif yang

memiliki kelarutan yang sama. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dhanani *et al*., (2017) melaporkan bahwa *Withania somnifera* yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (UAE) menggunakan pelarut air menghasilkan rendemen sebesar 11.85%, sementara penggunaan pelarut etanol hanya menghasilkan rendemen sebesar 3.17%.

b. Ekstraksi dengan Pelarut Akuades

Pembuatan ekstrak akuades dilakukan menggunakan metode infundasi. Metode infundasi dipilih dalam penelitian ini karena waktu pengerjaan yang relatif singkat, penggunaan peralatan yang sederhana, serta pelarut berupa akuades yang mudah diperoleh. Biaya operasional yang rendah juga menjadi salah satu kelebihan metode ini. Selain itu, metode ini dipilih karena proses pembuatannya serupa dengan cara penggunaan tradisional secara *empiris* (Muthia *et al*., 2023). Infundasi merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan panas untuk menarik senyawa kimia yang bersifat polar dari tanaman. Metode infundasi dilakukan dengan memanaskan panci

double boiling berisi air suling hingga mendidih (titik didih 90°C), kemudian dilanjut proses pemanasan panci berisi simplisia tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) yang sudah ditambahkan pelarut akuades selama 15 menit dengan pengadukan secara berkala.

Infusa tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dibuat pada suhu 90°C sebab pada suhu tersebut difusivitas pelarut air meningkat. Peningkatan ini terjadi akibat pelebaran jarak antar molekul dalam jaringan simplisia, sehingga pelarut dapat menembus lebih dalam dan mengekstraksi senyawa aktif secara maksimal (Sari *et al*., 2023). Penggunaan suhu 90°C dipilih dalam proses ini bertujuan dalam menjaga stabilitas senyawa aktif yang ada terkandung dalam tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). Hal ini karena pemanasan hingga suhu 100°C atau lebih berpotensi menyebabkan degradasi senyawa aktif (Donna *et al*., 2018). Pemilihan pelarut akuades steril pada penelitian ini disebabkan oleh metode ekstraksi yang menggunakan suhu tinggi serta sifat pelarut air yang cukup luas dalam melarutkan berbagai senyawa aktif.

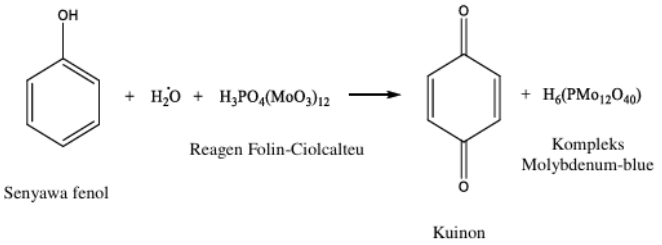
Akuades memiliki sifat sebagai molekul polar, yaitu molekul yang membawa muatan listrik dan memiliki gaya elektrostatis. Sebaliknya, molekul non polar memiliki karakteristik yang berlawanan, karena tidak membawa muatan listrik sehingga tidak menunjukkan adanya gaya elektrostatis, hal ini berkaitan dengan prinsip *like dissolves like* (Go *et al*., 2022). Setelah campuran direbus sesuai waktu yang ditentukan, proses dilanjutkan dengan penyaringan hingga diperoleh ekstrak cair yang kemudian diuapkan menggunakan oven vacum oven vacum pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kering. Sebanyak 11.15 g ekstrak kering berhasil diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan untuk penentuan persen rendemen. Rendemen yang diperoleh pada ekstraksi akuades yaitu 22.30%.

Rendemen ekstrak akuades menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70%. Air bersifat sangat polar, sehingga mampu melarutkan lebih banyak senyawa polar, baik yang bersifat bioaktif maupun non-bioaktif. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hidayah *et al*., (2019) melaporkan bahwa *Phyllanthus tenellus* yang di ekstraksi menggunakan pelarut air dan

metode ekstraksi infudasi menghasilkan nilai rendemen sebesar 22,35% lebih tingi dibanding dengan rendemen yang dihasilkan dengan pelarut metanol yaitu sebesar 14,7%.

4. Pengujian Fenolik Total

Fenolik memiliki struktur cincin aromatik dengan adanya salah satu gugus hidroksil (OH) yang terikat (Luringunusa *et al*., 2023). Penetapan kadar fenolik total dengan metode *Folin-Ciocalteu* untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.). Metode *Folin-Ciocalteu* bekerja berdasarkan prinsip pembentukan kompleks berwarna biru terbentuk sebagai hasil reaksi reduksi. Senyawa fenolik dalam sampel akan mereduksi asam heteropoli yang terkandung dalam reagen *Folin-Ciocalteu*, yaitu campuran *fosfomolibdat* dan *fosfotungstat*, menjadi kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru lebih pekat. Intensitas warna yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 765 nm (Listiana *et al.,* 2022). Reaksi kimia antara senyawa fenol dengan reagen *Folin-Ciocalteu* ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.7 Reaksi kimia senyawa fenol dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (Manongko *et al*., 2020).

Tingginya kadar senyawa fenolik dalam sampel akan menghasilkan sejumlah ion fenolat, selanjutnya mereduksi senyawa asam heteropoli (*fosfomolibdat-fosfotungstat*) dalam reagen *Folin-Ciocalteu,* sehingga terbentuk kompleks berwarna biru. Semakin banyak ion fenolat yang terbentuk, intensitas warna biru yang dihasilkan pun akan meningkat. Proses reaksi berlangsung kurang optimal pada lingkungan asam, sehingga penambahan natrium karbonat (Na_2CO_3 20%) dilakukan dalam menciptakan kondisi basa (Supriningrum *et al*., 2020). Lingkungan basa membantu melepaskan proton dari gugus hidroksil senyawa fenolik, membentuk ion fenolat yang reaktif, sehingga mempercepat reaksi reduksi (Candra *et al*., 2021).

Kandungan fenolik diukur dengan larutan standar berupa asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Asam galat dipilih sebagai standar pembanding karena

merupakan turunan dari asam hidrobenzoat dan termasuk dalam golongan fenol sederhana (Nainggolan *et al*., 2024). Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat menghasilkan kurva kalibrasi dengan sumbu x berupa konsentrasi asam galat (ppm) dan sumbu y berupa absorbansi standar asam galat seperti pada Lampiran 2. Hasil yang ditunjukkan pada Lampiran 2 menunjukkan kurva baku asam galat yang diperoleh persamaan regresi linear asam galat y = 0.0008x + 0.3027 dengan nilai R^2 = 0.9201. Persamaan kurva kalibrasi asam galat digunakan sebagai pembanding dalam menentukan kadar senyawa fenolik pada sampel uji. Penentuan kandungan fenolik pada ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 4.2 menunjukkan pada masing-masing sampel ekstrak memiliki kadar fenolik yang sangat berbeda nyata. Kadar fenolik pada ekstrak etanol 70% diperoleh sebesar 0.0082 mg GAE/g, sedangkan ekstrak akuades memghasilkan kadar fenolik sebesar 0.0261 mg GAE/g**.** Hasil kadar fenolik yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Sutoyo *et a*l., (2021)

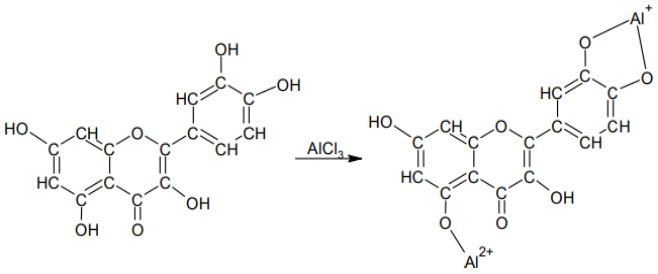
yang melaporkan bahwa kadar fenolik sebesar 36,364 mg GAE/g pada ekstrak etanol *S. plana*. Selanjutnya, pada penelitian Nofita & Nurlan (2020), menyatakan bahwa kandungan fenolik total ekstrak air daun surian tercatat sebesar 190.5 mg GAE/g, sedangkan ekstrak etanol 70% sebesar 168 mg GAE/g.

Tingginya kandungan senyawa fenolik pada ekstrak akuades ini diduga disebabkan oleh kesesuaian sifat kepolaran antara senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dan pelarut akuades. Etanol 70% sebagai pelarut semi-polar menjadikannya efektif dalam melarutkan senyawa dengan tingkat polaritas yang bervariasi, termasuk senyawa polar dan semi-polar., seperti fenolik semi-polar, khususnya flavonoid, karena flavonoid banyak yang tidak larut baik dalam air murni. Ini menjelaskan mengapa etanol 70% menghasilkan kandungan flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan akuades yang lebih selektif terhadap senyawa polar. Hal ini sejalan dengan prinsip *like dissolves like*, di mana pelarut akan lebih efektif melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran serupa (Putri *et al*., 2023).

5. Pengujian Flavonoid Total

Flavonoid tergolong dalam senyawa fenolik yang dikenal memiliki kemampuan antioksidan melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (Aklimah & Ekayanti, 2022). Penetapan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri memanfaatkan kompleks flavonoid dengan alumunium klorida ($AlCl_3$). Prinsip metode kolorimetri $AlCl_3$ dalam penetapan flavonoid didasarkan pada pembentukan kompleks antara ion aluminium (Al^{3+}) dengan gugus karbonil di posisi C-4 dan gugus hidroksil di posisi C-3 atau C-5 yang berdekatan pada struktur flavon dan flavonol (Mursiany *et al*., 2024). Pembentukan senyawa kompleks tersebut terjadi melalui mekanisme reaksi reduksi-oksidasi, di mana flavonoid berperan sebagai reduktor dan $AlCl_3$ sebagai oksidator. Kompleks senyawa tersebut kemudian dapat di ukur pada panjang gelombang 415 nm. Kandungan flavonoid diukur dengan larutan standar berupa quercetin atau Quercetin *Equivalent* (QE). Quercetin digunakan sebagai senyawa pembanding karena termasuk dalam kelompok flavonol, salah satu jenis flavonoid yang umum ditemukan pada tumbuhan serta mampu membentuk kompleks dengan $AlCl_3$ (Bangun &

Rahman, 2021). Reaksi pembentukan senyawa quercetin dengan $AlCl_3$ ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4. 8 Reaksi pembentukan senyawa quercetin dengan $AlCl_3$ (Bangun & Rahman, 2021).

Hasil pengukuran serapan larutan standar quercetin diperoleh kurva kalibrasi dengan sumbu x berupa konsentrasi quercetin (ppm) dan sumbu y berupa absorbansi standar quercetin seperti pada Lampiran 3 Hasil yang ditunjukkan pada Lampiran 3 menunjukkan kurva baku quercetin yang diperoleh persamaan regresi linear quercetin y = 0.0013x + 0.001 dengan nilai R^2 = 0.9997. Kurva kalibrasi quercetin digunakan sebagai pembanding dalam menentukan konsentrasi total flavonoid pada sampel uji. Penentuan kandungan flavonoid pada ekstrak etanol 70% dan ekstrak akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 4.3 menunjukkan pada masing-masing sampel ekstrak memiliki kadar flavonoid yang berbeda nyata. Ekstrak etanol 70% diperoleh kadar flavonoid sebesar 0.02097 mg QE/g, sedangkan ekstrak akuades memiliki kadar flavonoid sebesar 0.003233 mg QE/g**.** Hasil kadar flavonoid yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Sutoyo *et a*l., (2021) yang melaporkan bahwa kadar flavonoid sebesar 35.725 mg GAE/g pada ekstrak etanol *S. plana*. Selanjutnya, pada penelitian Aini *et al*., (2023), menyatakan bahwa ekstrak etanol 90% dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki kadar flavonoid sebesar 23.390 mg QE/g, sedangkan ekstrak infus (air) hanya sebesar 12.294 mg QE/g. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol cenderung lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dibandingkan pelarut air. Perbedaan konsentrasi etanol sebagai pelarut juga berpengaruh terhadap polaritas total pelarut, etanol 70% memiliki polaritas menengah yang ideal untuk melarutkan senyawa semi-polar seperti flavonoid. Hal ini disebabkan oleh kemampuan etanol membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil pada senyawa flavonoid disebabkan oleh adanya gugus -OH dalam strukturnya,

sehingga meningkatkan kelarutannya (Riwanti *et al*., 2020).

6. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dianalisis dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1 picrylhydrazy*). Pemilihan metode ini didasarkan pada beberapa keunggulan yaitu sederhana, mudah, cepat serta sensitivitas yang tinggi dan hanya membutuhkan jumlah sampel relatif sedikit dalam pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Hasan *et al*., 2022). Prinsip metode DPPH yaitu dengan melibatkan donasi atom hidrogen atau transfer elektron dari senyawa antioksidan kepada radikal DPPH, yang menyebabkan radikal tersebut berubah menjadi bentuk non radikal. Proses ini menetralkan DPPH, ditunjukkan melalui perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi kuning (Silviani *et al*., 2023). Perubahan warna akibat reaksi antara senyawa antioksidan dan radikal DPPH diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. DPPH memiliki nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm.. Pemilihan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk memperoleh serapan paling optimal

dari larutan uji, sehingga sensitivitas pengukuran meningkat dan nilai absorbansi sampel dapat diperoleh secara maksimal (Membri *et al*., 2021).

Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan persentase penghambatan radikal DPPH, atau melalui nilai IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang mampu mereduksi 50% aktivitas DPPH (Rahmah *et al*., 2023).

Radikal bebas seperti paparan sinar UV, polusi, dan asap rokok berpotensi merusak struktur kolagen dan elastin kulit. Kerusakan tersebut memicu munculnya berbagai tanda penuaan, termasuk keriput pada kulit. Senyawa antioksidan berperan penting dalam menangkal radikal bebas tersebut, sehingga dinilai memiliki potensi sebagai agen *anti-aging* alami (Hastiningsih, 2025). Famili Selaginellaceae ini kaya akan senyawa biflavonoid seperti amentoflavone, robustaflavone, hinokiflavone yang telah terbukti memiliki potensi sebagai antioksidan (Wang *et al*., 2015). Asam askorbat sebagai agen penghambat radikal bebas digunakan sebagai larutan standar pembanding karena perannya sebagai antioksidan sekunder yang efektif menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai.

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Gambar 3 hasil analisis uji T (T-test) menunjukkan adanya beda

nyata ($p < 0.05$) terhadap ekstrak etanol 70% (SE 70) dan ekstrak akuades (SW). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam akktivitas antioksidan pada masing-masing sampel ekstrak. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% (SE 70) sebesar 1024.19 ppm, lebih rendah dibandingkan ekstrak akuades (SW) yang sebesar 1128.36 ppm. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan, keduanya termasuk dalam kategori sangat lemah (IC_{50} > 500 ppm). Komponen bioaktif yang terlarut dalam berbagai jenis pelarut akan bervariasi dan mempengaruhi nilai IC_{50} yang dihasilkan. Studi sebelumnya yang dilakukan oleh Wijayanti *et al*., (2024) menunjukkan bahwa ekstrak dengan nilai IC_{50} > 500 µg/mL atau setara dengan > 500 ppm termasuk dalam kategori sangat lemah.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% (SE 70) menghasilkan aktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak akuades (SW) karena memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ini menunjukkan keterkaitan dengan hasil kadar pengujian flavonoid total yang diperoleh yaitu lebih tinggi, menunjukkan bahwa tidak semua senyawa fenolik memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Meskipun senyawa fenolik dikenal sebagai antioksidan

alami, kandungannya tidak selalu sejalan dengan tingkat aktivitas antioksidan, karena adanya kontribusi senyawa antioksidan lain dalam bahan (Mahardani & Yuanita, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak 70% (SE 70) mengandung flavonoid total yang lebih tinggi serta nilai IC_{50} lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak akuades. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nobosse *et al*., (2018), melaporkan bahwa ekstrak etanol dari *Moringa oleifera* memiliki kadar flavonoid sebesar 1.8 g CE/g dan aktivitas antioksidan sebesar 53.3–71.1% dibandingkan dengan ekstrak air yang hanya 15.6-20.6%. Kandungan flavonoid yang lebih banyak dalam ekstrak etanol 70% dapat menjelaskan, meskipun ekstrak akuades memiliki kadar total fenolik yang lebih tinggi, nilai IC_{50}-nya relatif tinggi (aktivitas lemah). Ini karena senyawa fenolik bukan selalu flavonoid, dan jenis fenolik yang dominan dalam ekstrak akuades kemungkinan berupa senyawa polar sederhana yang kurang efektif sebagai antioksidan.

7. Pengujian Aktivitas Anti-Kolagenase

Aktivitas anti-kolagenase merupakan salah satu parameter penting dalam mengevaluasi potensi *anti-*

aging suatu ekstrak dari bahan alam, berdasarkan peran utama enzim kolagenase dalam degradasi kolagen dan penurunan kekencangan kulit. Enzim kolagenase, terutama MMP-1, termasuk dalam kelompok *Matrix Metalloproteinases* (MMPs) dan berfungsi dalam menguraikan komponen utama dalam matriks ekstraseluler kulit yaitu kolagen tipe I dan III. (Hanai *et al*., 2025).

Paparan sinar ultraviolet (UV) dan stres oksidatif menyebabkan oksidasi fosfolipid pada membran sel, yang memicu pembentukan lipid peroksida. Proses ini berdampak pada terganggunya integritas membran, memicu respons inflamasi, dan merangsang peningkatan ekspresi enzim degradatif seperti matriks metalloproteinase-1 (MMP-1), yang berperan dalam proses pemecahan kolagen. Jalur persinyalan seluler (*cell signaling pathways*) seperti *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) turut berperan dalam proses ini, karena aktivasinya dapat menginduksi ekspresi gen-gen pro-penuaan. Selain itu, jalur NF-kB sebagai faktor transkripsi turut teraktivasi dalam kondisi stres oksidatif, memperkuat respons peradangan. Sehingga, peran senyawa antioksidan sangat penting dalam menghambat aktivasi jalur-jalur tersebut (Salavkar *et al*., 2011).

Pengujian aktivitas anti-kolagenase dilakukan terhadap ekstrak etanol 70% dan akuades tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.) pada beberapa variasi konsentrasi. Pengukuran aktivitas dilakukan dengan menentukan persentase inhibisi (% inhibisi) enzim untuk mengetahui potensi penghambatan yang dimiliki oleh kedua ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Gambar 4 hasil analisis uji T (Independent T-test) menunjukkan bahwa hasil penghambatan yang paling tinggi yaitu 74,4535% pada sampel ekstrak akuades (SW) pada konsentrasi 2000 µg/ml, sedangkan penghambatan yang paling rendah yaitu 45,4143% pada sampel ekstrak etanol 70% (SE 70) pada konsentrasi yang sama. Perbedaan antara kedua ekstrak tersebut terbukti beda nyata dengan nilai $p < 0,05$, yang menunjukkan bahwa ekstrak akuades (SW) menunjukkan aktivitas anti-kolagenase yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70% (SE 70) terutama pada konsentrasi tinggi.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Thring *et al*., (2009), melaporkan bahwa ekstrak *white tea* menggunakan pelarut air

menunjukkan inhibisi kolagenase yang tinggi hingga 87% pada konsentrasi 25 µg/ml dan hampir setara dengan EGCG sebagai kontrol positif.

Selain itu, pengujian aktivitas anti-kolagenase ini menunjukkan keterkaitan dengan hasil kadar pengujian fenolik total yang diperoleh yaitu lebih tinggi, menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang larut baik dalam pelarut akuades memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas anti-kolagenase. Air sebagai pelarut yang sangat polar dapat mengekstraksi senyawa fenolik dalam jumlah lebih tinggi. Aktivitas anti-kolagenase yang tinggi pada ekstrak akuades (SW) ini kemungkinan berasal dari senyawa fenolik non-flavonoid, seperti asam vanilat yang berkontribusi lebih dominan dalam mekanisme penghambatan enzim kolagenase. Merujuk pada beberapa studi sebelumnya, bahwa famili Selaginellaceae menunjukkan keberadaan asam vanilat yang merupakan senyawa turunan dari asam benzoat, termasuk dalam kelompok asam fenolat sebagai metabolit fenolik non-flavonoid dalam ekstrak akuades.

Penelitian yang dilakukan oleh Brad *et al*., (2017) melaporkan bahwa senyawa asam vanilat sebagai salah satu dari 20 senyawa utama yang di isolasi dan di

identifikasi dalam ekstrak *S. doederleinii*. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Baskaran *et al*., (2018) juga melaporkan keberadaan berbagai senyawa metabolit sekunder termasuk senyawa asam vanilat dalam ekstrak *Selaginella tamariscina*. Hal ini mendukung dugaan bahwa senyawa fenolik non-flavonoid seperti asam vanilat cenderung larut optimal dalam pelarut air, sehingga berkontribusi terhadap tingginya kadar total fenolik dan aktivitas anti-kolagenase pada ekstrak akuades, meskipun kandungan flavonoidnya relatif rendah.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Jiamphun & Chaiyana, (2022) pada ekstrak kulit padi ketan (*Glutinous rice husk*) dengan menggunakan pelarut air, menunjukkan bahwa asam vanilat merupakan senyawa dominan dalam ekstrak dan memiliki efek paling kuat dalam menghambat enzim kolagenase, dengan nilai IC_{50} sekitar 57,6 µg/mL. Hal ini menjelaskan mengapa aktivitas penghambatan kolagenase lebih tinggi meskipun kadar flavonoid yang diperoleh saat pengujian tergolong rendah dibandingkan dengan kadar fenoliknya.

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak tanaman cakar ayam dengan pelarut etanol 70% (SE 70) menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dengan nilai IC_{50} sebesar 1024,19 ppm, lebih rendah dibandingkan ekstrak akuades (SW) yang sebesar 1128,36 ppm. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan, keduanya termasuk dalam kategori sangat lemah, namun hasil ini menunjukkan adanya senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami.
2. Aktivitas anti-kolagenase tertinggi ditunjukkan pada ekstrak akuades yaitu sebesar 74,4535%, sedangkan penghambatan paling rendah yaitu 45,4143 pada ekstrak etanol 70%. Meskipun aktivitasnya belum tergolong sangat tinggi, hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dan anti-kolagenase dari ekstrak tanaman cakar ayam saling berkaitan dalam mekanisme perlindungan terhadap penuaan kulit. Senyawa bioaktif yang

terkandung dalam ekstrak ini memiliki potensi ganda, yakni menetralkan radikal bebas dan menghambat degradasi kolagen, sehingga mendukung peran tanaman cakar ayam sebagai agen potensial *anti-aging*.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran terkait penelitian ini untuk penelitian selanjutnya:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode lain, seperti ABTS atau FRAP, untuk memperkuat hasil dan validitas dari aktivitas antioksidan ekstrak tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.).
2. Perlu dilakukan uji lanjutan untuk identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman cakar ayam (*Selaginella plana* (Desv. ex Poir.) Hieron.), khususnya senyawa fenolik non-flavonoid yang diduga berperan dalam aktivitas anti-kolagenase, melalui pendekatan analisis fitokimia lanjutan seperti pengujian LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

Adnan, M., Siddiqui, A. J., Hamadou, W. S., Patel, M., Ashraf, S. A., Jamal, A., Awadelkareem, A. M., Sachidanandan, M., Snoussi, M., & De Feo, V. (2021). Phytochemistry, Bioactivities, Pharmacokinetics and Toxicity Prediction of *selaginella repanda* with its Anticancer Potential Against Human Lung, Breast And Colorectal Carcinoma Cell Lines. *Molecules*, *26*(3). https://doi.org/10.3390/molecules26030768

Adnan, M., Siddiqui, A. J., Jamal, A., Hamadou, W. S., Awadelkareem, A. M., Sachidanandan, M., & Patel, M. (2021). Evidence-based medicinal potential and possible role of *Selaginella* in the prevention of modern chronic diseases: Ethnopharmacological and ethnobotanical perspective. *Records of Natural Products*, *15*(5), 330–355. https://doi.org/10.25135/rnp.222.20.11.1890

Aini, R. N., Listyani, T. A., & Raharjo, D. (2023). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan, Desember*, *9*(23), 665–680. https://doi.org/10.5281/zenodo.10353550.

Aklimah, M., & Ekayanti, M. (2022). Penetapan Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum (L). Merr) Dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum Thwaites). Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, *10*(2), 11–14. https://doi.org/10.37304/jkupr.v10i2.5536

Alipour, H., Raz, A., Djadid, N. D., & Zakeri, S. (2019). Expression of a new recombinant collagenase protein of *lucilia sericata* in sf9 insect cell as a potential method for wound healing. *Iranian Journal of Biotechnology*, *17*(4), 16–24. https://doi.org/10.30498/ijb.2019.92707

Alviola, A. B., Amin, A., Mun'im, A., & Radji, M. (2023). Rasio Nilai Rendamen dan Lama Ekstraksi Maserat Etanol

Daging Buah Burahol (*Stelecocharpus burahol*) Berdasarkan Cara Preparasi Simplisia. *Makassar Natural Product Journal*, *1*(3), 176–184. https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj

Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Abdelgawad, A. A. M. (2017). Antioxidants: an Overview on the Natural and Synthetic Types. *European Chemical Bulletin*, *6*(8), 365. https://doi.org/10.17628/ecb.2017.6.365-375

Aulia, D. U., Khairatun, L. I., & Hidayati, A. R. (2024). Edukasi pembuatan simplisia sebagai bahan baku obat herbal pada siswi MA Darunnajah Duman. *INDRA: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, *5*(1), 46–49. https://doi.org/10.29303/indra.v5i1.276

Azhar, S. F., Y, K. M., & Kodir, R. A. (2021). Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan *Black Garlic* yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Jurnal Riset Farmasi*, *1*(1), 16–23. https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.43

Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, *04*(03), 3–8. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

Bangun, P. P. A., & Rahman, A. P. (2021). Analisis kadar total flavonoid pada daun dan biji pepaya (*carica papaya* l.) Menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru*, *2*(1), 1–5. https://doi.org/10.31102/attamru.v2i1.1263

Baskaran, X. ravi, Geo Vigila, A. varuvel, Zhang, S. zhou, Feng, S. xiu, & Liao, W. bo. (2018). A review of the use of pteridophytes for treating human ailments. *Journal of Zhejiang University: Science B*, *19*(2). https://doi.org/10.1631/jzus.B1600344

Bielach-Bazyluk, A., Zbroch, E., Mysliwiec, H., Rydzewska-Rosolowska, A., Kakareko, K., Flisiak, I., & Hryszko, T. (2021). Sirtuin 1 and skin: Implications in intrinsic and extrinsic *aging*—a systematic review. *Cells*, *10*(4), 1–21. https://doi.org/10.3390/cells10040813

Brad, K., Zhang, Y., Yang, X., & Wang, T. (2017). Identification of chemical constituents of *Selaginella doederleinii Hieron*. *International Conference on Energy and Environmental Protection (ICEEP 2017)*, *143*(Iceep), 455–459. https://doi.org/10.2991/iceep-17.2017.81

Campos, L. D., Santos Junior, V. de A., Pimentel, J. D., Carregã, G. L. F., & Cazarin, C. B. B. (2023). Collagen supplementation in skin and orthopedic diseases: A review of the literature. *Heliyon*, *9*(4), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14961

Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Pijar Mipa*, *16*(3), 397–405. https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308

Chen, J., Liu, Y., Zhao, Z., & Qiu, J. (2021). Oxidative stress in the skin: Impact and related protection. *International Journal of Cosmetic Science*, *43*(5), 495–509. https://doi.org/10.1111/ics.12728

Chikmawati, T., Setyawan, A. D., & . M. (2012). Phytochemical Composition of *Selaginella* spp from Java Island Indonesia. *MAKARA of Science Series*, *16*(2). https://doi.org/10.7454/mss.v16i2.1408

Cruz, A. M., Gonçalves, M. C., Marques, M. S., Veiga, F., Paiva-Santos, A. C., & Pires, P. C. (2023). In Vitro Models for *Anti-Aging* Efficacy Assessment: A Critical Update in Dermocosmetic Research. *Cosmetics*, *10*(2). https://doi.org/10.3390/cosmetics10020066

Dewatikasari, whika febria. (2020). Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata Prain*.) Menggunakan Metode Maserasi. *Journal.Uin-Alauddin*, *5*(September), 125–132. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/

Dhanang, Nugroho, P., & Edenia, M. T. A. P. (2023). Optimalisasi Suhu Pengeringan *Bloom Tea* Dengan Menggunakan Oven Dan Microwave Untuk Konservasi Kandungan Pigmen

Dan Antioksidan. *Science Technology and Management Journal*, *3*(1), 10–14. https://doi.org/10.53416/stmj.v3i1.113

Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera. Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S1193–S1199. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015

Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*. https://doi.org/10.1155/2020/9829176

Diah, A., Sari, K., Tri, F., & Sari, I. (2025). Artikel Review : Aplikasi Penggunaan Ultrasonik Pada Ekstraksi Antioksidan Pada Berbagai Simplisia Daun. *Camellia: Clinical, Pharmaceutical, Analytical and Pharmacy Community Journal*, *4*(1), 238–244.

Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, *26*(17), 1–16. https://doi.org/10.3390/molecules26175377

Donna, B. P., Wijaya, L. S., Syahid, M. A., Karine, S. W., & Handini, Y. S. (2018). Ekstrak Daun Seledri (*Ex-Sel*) Dalam Kemasan Ekonomis Siap Minum Untuk Terapi Hipertensi. *Abdi Insani*, *5*(2), 1. https://doi.org/10.29303/abdiinsani.v5i2.171

Duarte C, D, A, L., da Silva, M. G., Porto, A. L. F., de Albuquerque Wanderley, M. C., da Silva, S. S. S., de Andrade, A. F. (2024). Application of the galactomannan gel from *Cassia grandis seeds* for biomedical purposes: Study of the incorporation of collagenases and their release profile. *Carbohydrate Polymers*, *334*(March). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122061

Egra, S., Mitsunaga, T., & Kuspradini, H. (2021). Antioxidant and Antimicrobial Activity: The Potency of *Selaginella intermedia* Leaves Against Oral Pathogen. *Proceedings of the Joint Symposium on Tropical Studies (JSTS-19)*, *11*,

293–297. https://doi.org/10.2991/absr.k.210408.049

Eun, C. H., Kang, M. S., & Kim, I. J. (2020). Elastase/collagenase inhibition compositions of *Citrus unshiu* and its association with phenolic content and anti-oxidant activity. *Applied Sciences (Switzerland)*. https://doi.org/10.3390/app10144838

Fadillah, R. A., Vandian Nur, A., Santika Rahmasari, K., & Waznah, U. (2024). Pengaruh Penambahan Zat Aditif pada Perebusan Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) terhadap Kadar Besi (Fe) Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom. *Fullerene Journ.Of Chem*, *9*(1), 1–7. https://doi.org/10.37033/fjc.v9i1.619

Go, D., Pakan, P. D., Setianingrum, E. L. S., & Damanik, E. M. B. (2022). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betel* l.) dalam Hand Sanitizer terhadap Aktivitas Bakteri Staphylococcus aureus. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, *10*(2), 241–249. https://doi.org/10.35508/cmj.v10i2.8636

Gu, Y., Han, J., Jiang, C., & Zhang, Y. (2020). Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin *aging*. *Ageing Research Reviews*, *59*(December 2019), 101036. https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101036

Guo, J., Huang, X., Dou, L., Yan, M., Shen, T., Tang, W., & Li, J. (2022). Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *7*(1). https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0

Hanai, U., Kawabata, K., Tsunoda, Y., Nemoto, H., Imagawa, K., Kusaka-Kikushima, A., Takahashi, Y., Yoshida, H., & Akamatsu, T. (2025). Relationship Between Epidermal Matrix Metalloproteinase-1 and Dermal Collagen Reduction in Skin Subjected to Chronic Sun Exposure. *Journal of Clinical Medicine*, *14*(5), 1–15. https://doi.org/10.3390/jcm14051433

Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, F., Nuzul Ramadhani, F., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*)

Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, *2*(1), 67–73. https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995

Hastiningsih, M. C. I. (2025). The Role Of Natural Antioxidants In Delaying Premature Skin *Aging* Process. *Jurnal Eduhealth*, *16*(01), 145–154. https://doi.org/10.54209/eduhealth.v16i01

Herawati, E., Wijayanti, E. T., Budiretnani, D. A., Bukhori, D. B., & Azizah, D. N. (2025). Optimasi Suhu Dan Waktu Pengeringan Simplisia Daun Telang Sebagai Kandidat Antibakteri Alam. *Judika (Jurnal Nusantara Medika)*, *4*(1), 37–45.

Hidayah, N., Jusoh, M., Subki, A., Yeap, S. K., Yap, K. C., & Jaganath, I. B. (2019). Pressurized hot water extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthus tenellus*. *BMC Chemistry*, *13*, 1–10. https://doi.org/10.1186/s13065-019-0653-0

Iskandar, D., & Ramdhan, N. A. (2020). Pembuatan Teh Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Asal Kalimantan Barat Pada Variasi Suhu Pengeringan. *Jurnal Teknologi Technoscientia*.

Jiamphun, S., & Chaiyana, W. (2022). Enhanced Antioxidant, Hyaluronidase, and Collagenase Inhibitory Activities of *Glutinous Rice Husk* Extract by Aqueous Enzymatic Extraction. *Molecules*, *27*(10), 3317.

Khan, V., Jha, A., Princi, Seth, T., Iqbal, N., & Umar, S. (2024). Exploring the role of *jasmonic acid* in boosting the production of secondary metabolites in medicinal plants: Pathway for future research. *Industrial Crops and Products*, *220*(January), 119227. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119227

Křížkovská, B., Kumar, R., Řehořová, K., Sýkora, D., Dobiasová, S., Kučerová, D., Tan, M. C., Linis, V., Oyong, G., Ruml, T., Lipov, J., & Viktorová, J. (2021). Comparison of chemical composition and biological activities of eight *selaginella* species. *Pharmaceuticals*, *14*(1), 16. https://doi.org/10.3390/ph14010016

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*(July 2020), 105325. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325

Kurniawati, E., Lestari, T. P., & Pertiwi, K. K. (2024). Validasi Metode Analisis Kuersetin Dari Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *10*((1)), 72-81. http://jurnal.stiksam.ac.id/index.php/jim/article/view/780

Kurniawati, S. L., Saputri, S. A., & Muarif, M. (2023). Uji Antitukak Lambung Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Pada Mencit Yang Di Induksi Asetosal. *Java Health Jounal*, *10*, 2.

Lee, H., Kim, S. Y., Lee, S. W., Kwak, S., Li, H., Piao, R., Park, H. Y., Choi, S., & Jeong, T. S. (2022). Amentoflavone-Enriched *Selaginella rossii* Protects against Ultraviolet- and Oxidative Stress-Induced Aging in Skin Cells. *Life*, *12*(12). https://doi.org/10.3390/life12122106

Lei, J., Zhu, L., Zheng, Y., Yu, M., Li, G., Zhang, F., Linghu, L., Yu, J., Luo, Y., Luo, X., Gang, W., & Qin, C. (2021). Homogenate-Ultrasound-Assisted Ionic Liquid Extraction of Total Flavonoids from *Selaginella involven*: Process Optimization, Composition Identification, and Antioxidant Activity. *ACS Omega*. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01087

Leswana, N. F., & Sianturi, S. (2024). Antioxidant Activity of Tahongai Leaves (*Klenhovia hospital* L.) Infusa Using DPPH Method. *Jurnal Proteksi Kesehatan*, *13*(1), 36–45.

Li, W., Deng, S., Lei, J., Ma, X., Zhang, F., & Wang, G. (2020). Ionic Liquid-Microwave-Based Extraction Of Amentoflavone From *Selaginella Trachyphylla*. *Bangladesh J Bot*, *49*(3), 777–786.

Listiana, L., Wahlanto, P., Ramadhani, S. S., & Ismail, R. (2022). Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr*) Perasan Dan Rebusan

Dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacy Genius*, *1*(1), 62–73. https://doi.org/10.56359/pharmgen.v1i01.152

Loo, Y. C., Hu, H. C., Yu, S. Y., Tsai, Y. H., Korinek, M., Wu, Y. C., Chang, F. R., & Chen, Y. J. (2023). Development on potential skin *anti-aging* agents of *Cosmos caudatus Kunth* via inhibition of collagenase, MMP-1 and MMP-3 activities. *Phytomedicine*, *110*(December 2022), 154643. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154643

Luringunusa, E., Sanger, G., Sumilat, D. A., Montolalu, R. I., Damongilala, L. J., & Dotulong, V. (2023). Qualitative Phytochemical Analysis of *Gracilaria verrucosa* from North Sulawesi Waters. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, *11*(2), 551–563. https://doi.org/10.35800/jip.v11i2.48777

Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, *10*(1), 64–78. https://doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p64-78

Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, *9*(2), 64. https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725

Mareta, C. A. (2020). Efektifitas Pegagan (*Centella asiatica*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Medika Hutama*, *02*(01), 390–394. http://jurnalmedikahutama.com

Maria, M. S., Sujuti, H., Kurnia, D., & Widjanarko, S. B. (2020). Methanol and ethyl acetate extracts of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) short-red showed high of phenolic and radicals scavenging activities . *Research Journal of Pharmacy and Technology*. https://doi.org/10.5958/0974-360x.2020.00734.9

Matsunaga, K. K. S., Cullen, N. P., & Tomescu, A. M. F. (2017). Vascularization of the *Selaginella* rhizophore: anatomical fingerprints of polar auxin transport with implications for the deep fossil record. *New Phytologist*, *216*(2), 419–428. https://doi.org/10.1111/nph.14478

Matwiejczuk, N., Galicka, A., Zaręba, I., & Brzóska, M. M. (2020). The protective effect of *rosmarinic acid* against

unfavorable influence of methylparaben and propylparaben on collagen in human skin fibroblasts. *Nutrients*, *12*(5). https://doi.org/10.3390/nu12051282

Mawarni, E., Novalinda Ginting, C., Chiuman, L., Girsang, E., Anisa, R., Handayani, S., & Widowati, W. (2020). Antioxidant and Elastase Inhibitor Potential of Petals and Receptacle of Rose Flower (*Rosa damascena*). *Pharmaceutical Sciences and Research*, *7*(2), 105–113.

Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, *7*(3). https://doi.org/10.3390/agronomy7030047

Membri, D. K., Yudistira, A., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina Paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacon*, *10*(2), 774. https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34024

Mohsen, E., Younis, I. Y., & Farag, M. A. (2020). Metabolites profiling of Egyptian *Rosa damascena* Mill. flowers as analyzed via ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry in relation to its anti-collagenase skin eff. *Industrial Crops and Products*, *155* (March), 112818. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112818

Mossad, O., Batut, B., Yilmaz, B., Dokalis, N., Mezö, C., Nent, E., Nabavi, L. S., Mayer, M., Maron, F. J. M., Buescher, J. M., de Agüero, M. G., Szalay, A., Lämmermann, T., Macpherson, A. J., Ganal-Vonarburg, S. C., Backofen, R., Erny, D., Prinz, M., & Blank, T. (2022). Gut microbiota drives age-related oxidative stress and mitochondrial damage in microglia via the metabolite N 6-carboxymethyllysine. *Nature Neuroscience*, *25*(3), 295–305. https://doi.org/10.1038/s41593-022-01027-3

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). *Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review*. *International*

journal of molecular sciences, *22*(7), 3380.

Mursiany, A., Olivia Umboro, R., & Dian Anggraini, T. (2024). Penetapan Kadar Flavonoid Total Infusa Rambut Jagung Manis (*Zea Mays Saccharata Sturt*) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Secara Kolorimetri. *Jurnal Locus Penelitian Dan Pengabdian*, *2*(12), 1191–1200. https://doi.org/10.58344/locus.v2i12.2354

Mus, S., Maryam, F., Utami, Y. P., & Fatimah, R. (2023). Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanol Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) dengan Parameter Kadar Kreatinin dan BUN pada Mencit (Mus musculus) Jantan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, *9*(2), 221–227. https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.339

Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., & Rodríguez-Serrano, F. (2016). Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2016*. https://doi.org/10.1155/2016/6719534

Muthia rahmi, Ramadhan hafiz, A. zyrzasyz sofia nara. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (1,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl). *Jurnal Sains Medisina*, *2*(1), 6–12.

Nabavi, S. M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Suntar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., Xiao, J., Giampieri, F., Battino, M., Sobarzo-Sanchez, E., Nabavi, S. F., Yousefi, B., Jeandet, P., Xu, S., & Shirooie, S. (2020). Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, *38*(October 2018), 107316. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.005

Nafiisah, A., Purnamasari, R., & Mudalianah, S. (2024). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak Etanol Daun Binahong. *Jurnal Sosial Dan Sains*, *4* (November), 1093–1106.

Nainggolan, R. M., Rahayu, M. P., & Rejeki, E. S.,, F., (2024). Uji

Aktivitas Antioksidan , Kadar Flavonoid , dan Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Jawa *(Tamarindus indica L .)*. *10*(2), 397–410.

Nakai, K., & Tsuruta, D. (2021). What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19). https://doi.org/10.3390/ijms221910799

Nisa, K., Nurhayati, S., Apriyana, W., & Indrianingsih, A. W. (2017). Investigation of Total Phenolic and Flavonoid Contents, and Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activities from *Baeckea frutescens* Extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. https://doi.org/10.1088/1755-1315/101/1/012002

Nobossé, P., Fombang, E. N., & Mbofung, C. M. F. (2018). Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food Science and Nutrition*, *6*(8), 2188–2198. https://doi.org/10.1002/fsn3.783

Nofita, D., & Nurlan, D. S. (2020). Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70% dengan Ekstrak Air Daun Surian (*Toona sureni* Merr.). *Sainstek : Jurnal Sains Dan Teknologi*, *12*(2), 79. https://doi.org/10.31958/js.v12i2.2331

Oulebsir, C., Mefti-Korteby, H., Djazouli, Z. E., Zebib, B., & Merah, O. (2022). Essential Oil of *Citrus aurantium* L. Leaves: Composition, Antioxidant Activity, Elastase and Collagenase Inhibition. *Agronomy*, *12*(6). https://doi.org/10.3390/agronomy12061466

Paculová, V., Prasad, A., Sedlářová, M., & Pospíšil, P. (2024). Oxidative modification of collagen by malondialdehyde in porcine skin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *752*(December 2023). https://doi.org/10.1016/j.abb.2023.109850

Pangondian, A., Athaillah, A., Chandra, P., & Renaldi, R. (2023). Edukasi Pemanfaatan Pengawetan Bahan Alam Dengan Metode Simplisia Pada Siswa SMP Pahlawan Medan. *Jukeshum: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, *3*(2), 291–295.

https://doi.org/10.51771/jukeshum.v3i2.651

Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, *14*(8), 1–24. https://doi.org/10.3390/ma14081984

Pientaweeratch, S., Panapisal, V., & Tansirikongkol, A. (2016). Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica,* Manilkara zapota and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharmaceutical Biology*, *54*(9), 1865–1872. https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1133658

Pribadi, T., Zakiyyah, Z., Zahra, S., Ranesti, I., Hadi, C., Pratama, M. I., Biologi, M., Padjadjaran, U., Biologi, P., Mulawarman, U., & Korespondensi, P. (2024). Eksplorasi Potensi Daun Singkil (*Premna corymbosa* Rottl. et Willd) sebagai Teh Herbal: Studi Perbandingan Kandungan Bioaktif Ekstrak dan Rendaman Daun. *Agroteknika*, *7*(July), 576–588.

Putri, C. N., Rahardhian, M. R. R., & Ramonah, D. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Esktrak Etanol Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, *7*(1), 15. https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.43465

Putri, J. Y., Nastiti, K., & Hidayah, N. (2023). Pengaruh Pelarut Etanol 70% Dan Metanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, *3*(2), 20–29. https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i2.235

Rahmah, R., Rahayu, Y. P., Ridwanto, R., & Daulay, A. S. (2023). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode DPPH. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, *1*, 9–25. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.369

Rahmawati, R., Muflihunna, A., & Sarif, L. M. (2016). Analisis

Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Metode Dpph. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, *2*(2), 97–101. https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.177

Rasul, M. G. (2018). Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*, *2*(6), 10–14.

Reilly, D. M., & Lozano, J. (2021). Skin collagen through the lifestages: importance for skin health and beauty. *Plastic and Aesthetic Research*, *8*. https://doi.org/10.20517/2347-9264.2020.153

Ritonga, M., & Nasri, M. K. (2021). Tafsir Ayat-Ayat Tentang Manajemen Sumber Daya Manusia. *Cybernetics: Journal Educational Research and Social Studies Volume 2, Nomor 1, Januari 2021*, *2*(1), 15. http://pusdikra-publishing.com/index.php/jrss

Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (2020). Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid total ekstrak etanol 50, 70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, *2*(2), 80–95.

Rizkuloh, L. R., Adlina, S., & Yuliana, A. (2023). Pengaruh Variasi Konsentrasi Dinatrium EDTA Terhadap Stabilitas Fisika dan pH Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, *5*(1), 49–59. https://doi.org/10.24123/mpi.v5i1.5539

Rostkowska, E., Poleszak, E., Wojciechowska, K., & Dos Santos Szewczyk, K. (2023). Dermatological Management of Aged Skin. *Cosmetics*, *10*(2). https://doi.org/10.3390/cosmetics10020055

Saini, N., Anmol, A., Kumar, S., Wani, A. W., Bakshi, M., & Dhiman, Z. (2024). Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants- a comprehensive review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *133*(August), 102383.

https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102383
Salavkar, S. M., Tamanekar, R. A., & Athawale, R. B. (2011). Antioxidants in skin *ageing* - Future of dermatology. *International Journal of Green Pharmacy*, *5*(3), 161–168. https://doi.org/10.4103/0973-8258.91221
Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., & Sharifi-Rad, J. (2018). Antioxidants: Positive or negative actors? *Biomolecules*, *8*(4), 1–11. https://doi.org/10.3390/biom8040124
Sari, I. P., Hidayati, A. R., & Muliasari, H. (2023). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Infusa Simplisia Segar dan Simplisia Kering Daun Buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) dengan Metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, *5*(5), 605–614. https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1792
Seberang, S., Samarinda, B. O. X., Seberang, S., Samarinda, B. O. X., & Samarinda, B. O. X. (2021). Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Buah Jengkol (*Pithecellobium Jiringga*). *Buletin Poltanesa*, *22*(1), 80–85.
Sembiring, B. S. B., Fanani, M. Z., & Jumiono, A. (2022). Pengaruh Teknologi Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Seledri. *Jurnal Ilmiah Pangan Halal*, *4*(2), 1–6. https://doi.org/10.30997/jiph.v4i2.9898
Setyawan, A. D. (2009). Traditionally utilization of *Selaginella*; field research and literature review. *Nusantara Bioscience*, *1*(3), 146–158. https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n010307
Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., Ansar, H., & Suleria, R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(54), 81112–81129. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6
Shobah, A. N., Lidiah, M., & Stiani, S. N. (2023). Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*) pada Fungi *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, *10*(2), 94–

105. https://doi.org/10.33653/jkp.v10i2.1001

Silva, R. M. G. da, Alves, C. P., Barbosa, F. C., Santos, H. H., Adão, K. M., Granero, F. O., Figueiredo, C. C. M., Figueiredo, C. R., Nicolau-Junior, N., & Silva, L. P. (2024). Antioxidant, antitumoral, antimetastatic effect and inhibition of collagenase enzyme activity of *Eleutherine bulbosa* (Dayak onion) extract: In vitro, in vivo and in silico approaches. *Journal of Ethnopharmacology*, *318*(August 2023). https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117005

Silviani, I., Kurniawan, K., & Lestari, I. T. (2023). Uji Perbandingan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth) Dan Daun Leunca (S*olanum Ningrum* L) Dengan Metode. *Jurnal Ilmiah Global Farmasi*, *1*(1), 27–35.

Singh, N. K., Baranwal, J., Pati, S., Barse, B., Khan, R. H., & Kumar, A. (2023). Application of plant products in the synthesis and functionalisation of biopolymers. *International Journal of Biological Macromolecules*, *237*(February), 124174.https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124174

Srisuksomwong, P., Kaenhin, L., & Mungmai, L. (2023). Collagenase and Tyrosinase Inhibitory Activities and Stability of Facial Cream Formulation Containing Cashew Leaf Extract. *Cosmetics*, *10*(1). https://doi.org/10.3390/cosmetics10010017

Supriningrum, R., Nurhasnawati, H., & Faisah, S. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Al Ulum Jurnal Sains Dan Teknologi*, *5*(2), 54. https://doi.org/10.31602/ajst.v5i2.2802

Suryani, E., Febrianti, Y., & Arisandy, D. A. (2023). Keanekaragaman Tumbuhan Selaginella Di Kawasan Bukit Gatan Kabupaten Musi Rawas. *Nusantara Hasana Journal*, *2*(9), 31–39.

Sutoyo, S., M Sanjaya, I. G., Hidayah, R., Puspita Sari, D., & Fadzlillah, N. A. (2021). Phytochemical Screening, Total

Flavonoid Content, and Total Phenolic Content of Ethanol Extract of the Indonesian Fern *Selaginella Plana*. *Advances in Engineering Research*, *209*(Ijcse), 357–362.

Syahara, S., & Vera, Y. (2020). Penyuluhan pemanfaatan buah Tomat sebagai produk kosmetik antioksidan alami di desa Manunggang Julu. *Jurnal Education and Development*, *8*(1), 21–22.

Thring, T. S. A., Hili, P., & Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *9*, 1–11. https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-27

Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, *13*(1), 4–14. https://doi.org/10.3390/ijpb13010003

Wang, G., Yao, S., Zhang, X.-X., & Song, H. (2015). Rapid screening and structural characterization of antioxidants from the extract of *Selaginella doederleinii* Hieron with DPPH-UPLC-Q-TOF/MS method. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2015*(1). https://doi.org/10.1155/2015/849769

Wang, Y., Yu, Y., & Zhang, Y. (2024). Therapeutic properties and enzyme inhibition potentials of some natural compounds on hyaluronidase, collagenase, and elastase with molecular docking studies. *Macromolecular Research*, *32*(5), 475–491. https://doi.org/10.1007/s13233-023-00242-6

Warraich, U. e. A., Hussain, F., & Kayani, H. U. R. (2020). *Aging* - Oxidative stress, antioxidants and computational modeling. *Heliyon*, *6*(5), e04107. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04107

Wijayanti, E. D., Rahayu, O. L., Dzulaikha, S., Ayunda, F. R., & Djara, S. (2024). Phytochemical Profile and Antioxidant Potential of *Tobacco Flower* Extract in Different Solvents. *JSMARTech*, *5*(1), 04–08.

https://doi.org/10.21776/ub.jsmartech.2024.005.01.04

Wulandari, R., Chandra, E. C., Arsiningtyas, I. S., Ni'maturrohmah, D., Suryani, A. E., Darsih, C., Haryanti, S., Rahmah, N. M., & Handayani, S. (2025). Physicochemical evaluation and delayed *aging* activity of the cream containing aloe vera and rosella extracts. *Indonesian Journal of Pharmacy*. https://doi.org/10.13057/biodiv/d170152

Yang, E., Lee, I., & Jung, H. S. (2025). Micro- and nano-bubble mediated ultrasound-assisted extraction of quercetin from *red onion* peels using glycerol–water solvent. *Journal of Molecular Liquids*, *428*(March), 127492. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.127492

Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., & Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. *Antioxidants*, *6*(3), 1–18. https://doi.org/10.3390/antiox6030070

Yatmihatun, S., & Estuningsih, E. (2020). Perbandingan Aplikasi Terapi Akupunktur Dengan Susu Fermentasi Kefir Untuk Menghambat Proses Penuaan Dini Di Kota Surakarta. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 153–160. https://doi.org/10.34035/jk.v11i2.438

Yulinar, F., & Suharti, P. H. (2023). Seleksi Proses Ekstraksi Daun Sirih Pada Pra Rancangan Pabrik Hand Sanitizer Daun Sirih Dengan Kapasitas Produksi 480 Ton/Tahun. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, *8*(1), 146–153. https://doi.org/10.33795/distilat.v8i1.305

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, *17*(1). https://doi.org/10.1177/1934578X211069721

Ziada, A. S., Smith, M. S. R., & Côté, H. C. F. (2020). Updating the Free Radical Theory of Aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *8*(September), 1–5. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.575645

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Determinasi

DIREKTORAT PENGELOLAAN LABORATORIUM, FASILITAS RISET, DAN KAWASAN SAINS TEKNOLOGI
Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340
Telepon/WA: 0811 8612 392; E-mail: dit-plfrkst@brin.go.id
www.brin.go.id

I. Identitas Pemohon
Nama : Sri Handayani
Alamat : Kaliduren I RT.06,RW.18 Sumberagung,Moyudan,Sleman,Yogyakarta

II. Detail Pengajuan Layanan
ID Transaksi : #181922
Nama Layanan : Determinasi tumbuhan obat (makroskopis dan mikroskopis)
Deskripsi Pengujian : sampel segar cakarayam
Tanggal Pengajuan : 24-09-2024 10:14:16
Tanggal Pelaksanaan : 08-10-2024 07:46:27 s.d. 08-10-2024 08:23:40
Daftar Sampel :

No	Kode Sampel	Nama Sampel

III. Hasil Pengujian
Keterangan hasil pengujian : Hasil identifikasi dua sampel tumbuhan segar cakar ayam adalah *Selaginella plana* (Desv.) Hieron., suku Selaginellaceae

Dikeluarkan di : KKB Tawangmangu (Soetarman)
Pada Tanggal : 08 Oktober 2024

Laporan ini mengacu pada kondisi sampel saat diterima dan hanya berhubungan dengan sampel yang diuji. *This report refers to the condition when samples received and relate onlywith samples tested*

Laporan ini tidak boleh disalin sebagian maupun seluruhnya tanpa seijin dari Direktorat Pengelolaan Laboratorium, Fasilitas Riset, dan Kawasan Sains dan Teknologi BRIN. *This report may not be reproduced in whole or in part without permission from Directorate of Laboratory Management, Research Facilities, and Science and Technology Area*

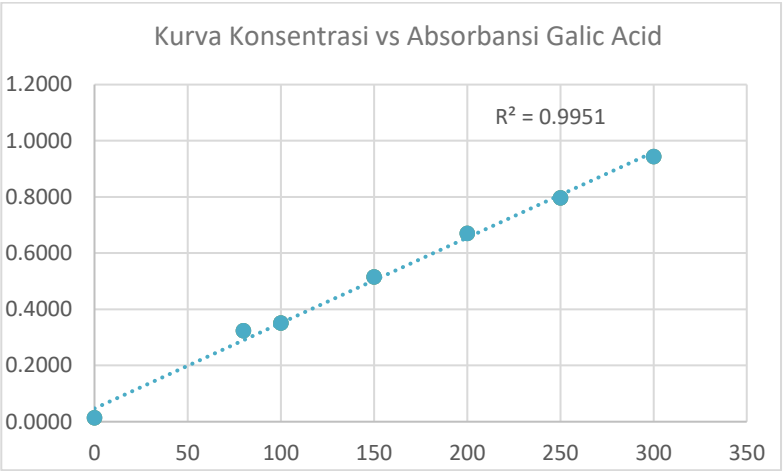
Disetujui Oleh (*Approved by*)
Nama : Dr. Farida Rosana Mira, S.P.
Jabatan : Koordinator Pengelola Laboratorium Bahan Baku Obat Tradisional Tawangmangu
Tanggal : 08 Oktober 2024
TTD : TT ELEKTRONIK

Lampiran 2. Data Pengujian Fenolik Total

1. Tabel kosentrasi standar Asam Galat

Kons Standar	1	2	3	4	rata rata	rata rata-blanko
0	0.1035	0.1041	0.1021	0.1034	0.1033	0.0134
80	0.4087	0.4147	0.4115	0.4172	0.4130	0.3232
100	0.4375	0.4429	0.4392	0.4452	0.4412	0.3514
150	0.6003	0.6031	0.5987	0.6186	0.6052	0.5153
200	0.7537	0.7635	0.7615	0.7588	0.7594	0.6695
250	0.8902	0.8620	0.8968	0.8956	0.8862	0.7963
300	1.0231	1.0308	1.0360	1.0449	1.0337	0.9439
BLANK	0.0901	0.0896	0.0901	0.0896	0.0899	0.0000

2. Gambar kurva kalibrasi standar Asam Galat

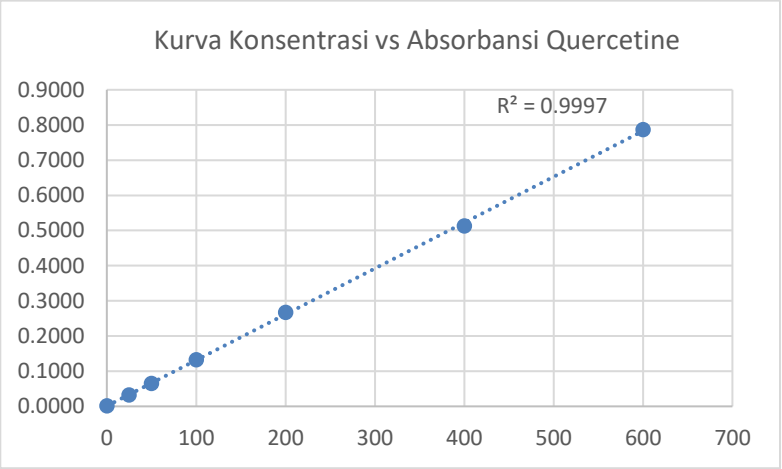


Lampiran 3. Data Pengujian Flavonoid Total

1. Tabel kosentrasi standar Quercetin

Kons. Standar	1	2	3	4	rata rata	rata rata-blanko
0	0.1014	0.1002	0.0994	0.1017	0.1007	0.0014
25	0.1304	0.1303	0.1313	0.1341	0.1315	0.0322
50	0.1626	0.1631	0.1656	0.1656	0.1642	0.0649
100	0.2329	0.2326	0.2361	0.2273	0.2322	0.1329
200	0.3668	0.3624	0.3678	0.3693	0.3666	0.2673
400	0.6034	0.6088	0.6169	0.6202	0.6123	0.5130
600	0.8866	0.8904	0.8954	0.8743	0.8867	0.7874
BLANK	0.0991	0.0993	0.0995	0.0993	0.0993	0.0000

2. Gambar kurva kalibrasi standar Quercetin

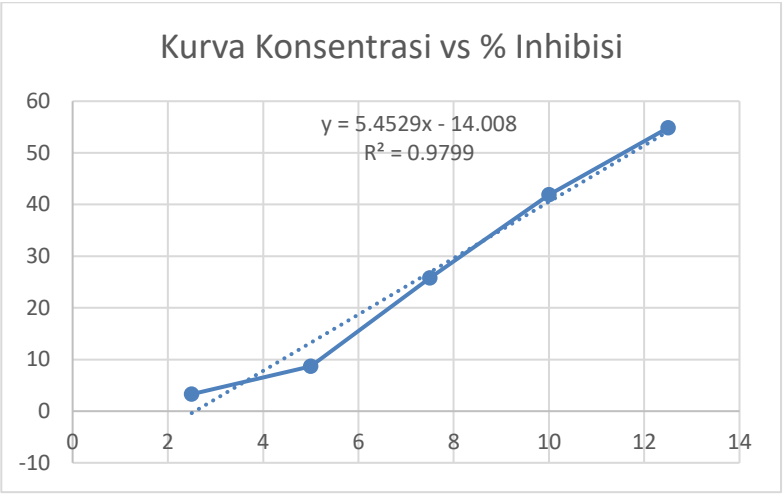


Lampiran 4. Data Pengujian Aktivitas Antioksidan

1. Tabel kosentrasi standar Asam Askorbat

Kons	Absorbansi			Rata-Rata	rata rata % inhibisi
	1	2	3		
2.5	0.4380	0.4259	0.4756	0.4465	3.292181
5	0.4097	0.4269	0.4285	0.4217	8.663634
7.5	0.3202	0.3440	0.3640	0.3427	25.76709
10	0.2645	0.2540	0.2866	0.2684	41.87423
12.5	0.2101	0.2118	0.2035	0.2085	54.84803
Kontrol	0.4618	0.4618	0.4615	0.4617	

2. Gambar kurva kalibrasi standar Asam Askorbat



Lampiran 5. Data Pengujian Aktivitas Anti-Kolagenase

1. Tabel kosentrasi standar 1,1 PHE dan sampel

Sampel	Konsentrasi (ug/ml)	ΔAbsorbansi			Rata-Rata
		1	2	3	
1,1 PHE	10	0.0063	0.0031	0.0029	0.0041
SE70	100	0.0322	0.0419	0.0379	0.037333
	500	0.0333	0.0355	0.0357	0.034833
	1000	0.0257	0.0354	0.0334	0.0315
	2000	0.0182	0.0214	0.0204	0.02
SW	100	0.0415	0.0375	0.0398	0.0396
	500	0.0332	0.0356	0.0318	0.033533
	1000	-0.0007	0.0135	0.0181	0.0103
	2000	0.012	0.0073	0.0096	0.009633
Kontrol -	0	0.0424	0.0325	0.0371	0.037333

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

A. Pembuatan Simplisia Tanaman Cakar Ayam



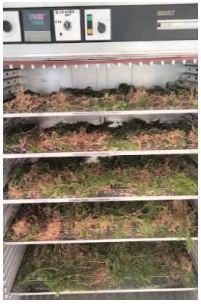
Sampel tanaman segar



Sortasi basah



Pencucian dengan air mengalir dari selang


Tahap pengeringan


Hasil sortasi kering


Tahap penghalusan

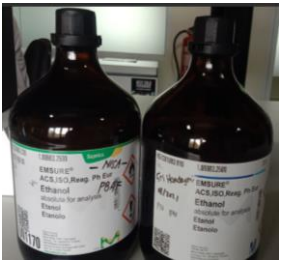

Sampel serbuk simplisia

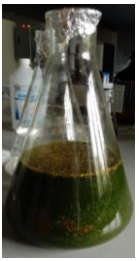

Simplisia di simpan dalam plastik


Penimbangan total simplisia

B. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Tanaman Cakar Ayam


100 g simplisia


Pelarut etanol 70%


Tahap ekstraksi


Sonikasi 1 jam

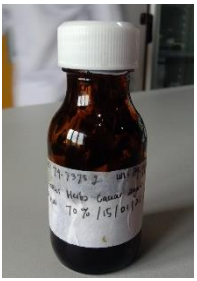

Maserasi


Penyaringan


Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator*


Ekstrak etanol 70%


Penguapan pelarut dengan oven


Ekstrak disimpan dalam vial

C. Pembuatan Ekstrak Akuades Tanaman Cakar Ayam


50 g simplisia



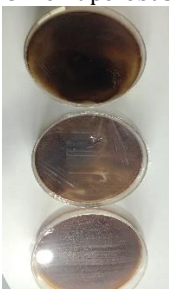
Akuades

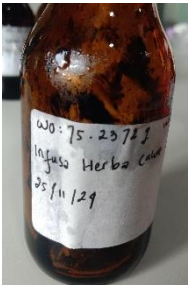

15 menit perebusan


Penyaringan

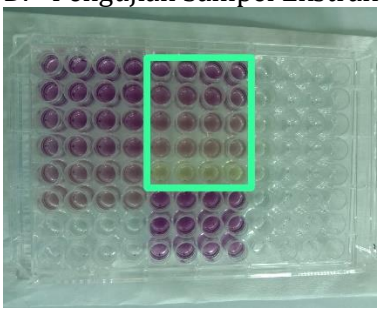

Hasil Infundasi


Penguapan pelarut dengan oven

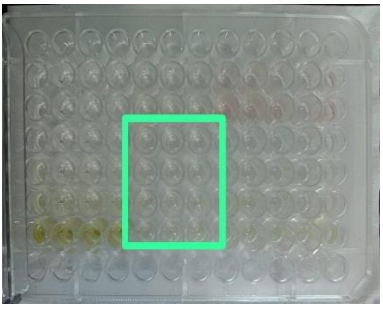

Ekstrak akuades


Ekstrak disimpan dalam vial

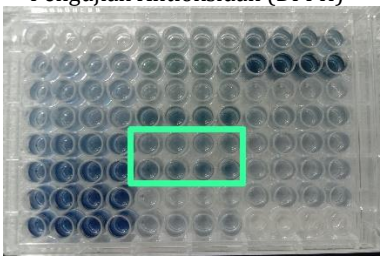
D. Pengujian Sampel Ekstrak Etanol 70%



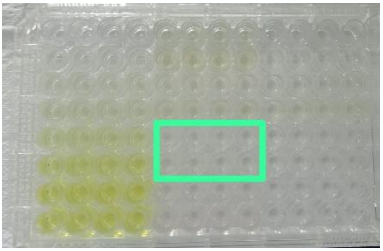
Pengujian Antioksidan (DPPH)



Pengujian Anti-kolagenase

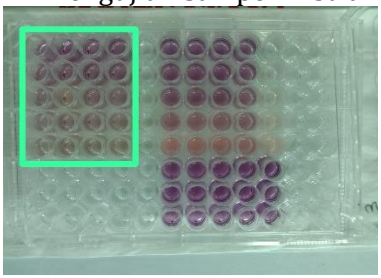


Pengujian Fenolik Total

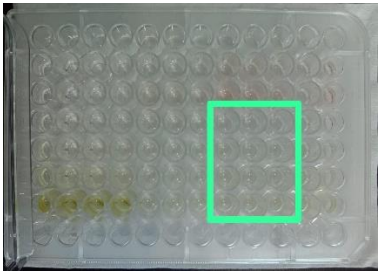


Pengujian Flavonoid Total

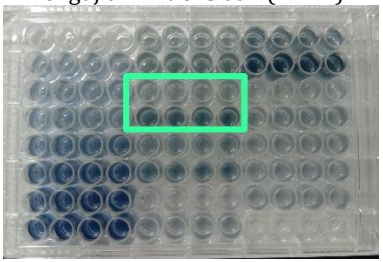
E. Pengujian Sampel Ekstrak Akuades



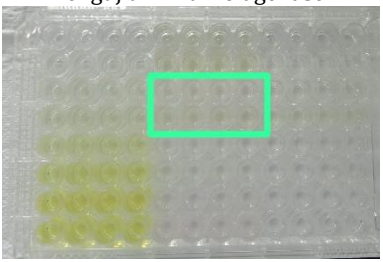
Pengujian Antioksidan (DPPH)



Pengujian Anti-kolagenase



Pengujian Fenolik Total



Pengujian Flavonoid Total

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Lina Alfina Rahmawati
2. Tempat, Tanggal Lahir : Demak, 29 Agustus 2003
3. Alamat : Surodadi, RT/RW 001/002 Kel/Desa Surodadi, Kecamatan Sayung, Kabupaten Demak, Provinsi Jawa Tengah
4. Nomor Hp : 082135680833
5. E-mail : linaalfina29@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Formal :
   a. TK Harapan Bangsa Surodadi
   b. SD N 1 Surodadi
   c. Mts Nurul Quran Sayung
   d. SMA N 1 Sayung
   e. UIN Walisongo Semarang

2. Non-Formal :
   a. Pondok Pesantren Al-Inhald Sayung

C. Karya Ilmiah

1. Nawang, M., Aidatul, A., Azizah, I., **Alfina, L.**, & Wahidah, B. F. (2024). Festival Generasi Islami: Silaturahmi dan Pengembangan Karakter Islami Anak Desa Canggal. *Al-Furqan: Jurnal Agama, Sosial, dan Budaya*, *3*(5), 2387-2398.