

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN MUDA DAN
DAUN DEWASA TUMBUHAN KEJI
(*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagai Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
dalam Ilmu Biologi



Oleh:

Zhusna Nisha Maulida

NIM: 1908016021

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Zhusna Nisha Maulida

NIM : 1908016021

Jurusan : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“Aktivitas Antioksidan Daun Muda dan Daun Dewasa
Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)”**

Secara keseluruhan adalah hasil peneliti/karya saya sendiri,
kecuali bagian tertentu yang dirujuk dari sumbernya.

Semarang, 27 September 2023

Pembuat pernyataan



Zhusna Nisha Maulida

NIM: 1908016021



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7604554 Fax.7601293

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Aktivitas Antioksidan Daun Muda Dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)

Penulis : Zhusna Nisha Maulida

NIM : 1908016021

Program Studi : 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 Ilmu Biologi.

Semarang, 10 Oktober 2023

Dewan Penguji

Penguji I,

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.
NIP. 198709112018012001

Penguji II,

Asri Febriana, M.Si.
NIP.198902012019032015

Penguji III,

Hafidha Asni Akmalia, M.Sc.
NIP: 198908212019032013

Penguji IV,

Chusnul Adib Achmad, M.Si.
NIP: 198712312019031018

Pembimbing I,

Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.
NIP. 198709112018012001

Pembimbing II,

Asri Febriana, M.Si.
NIP.198902012019032015

NOTA DINAS

Semarang, 29 September 2023

Kepada

Yth. Dekan 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 Daun Muda dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)

Nama : Zhusna Nisha Maulida

NIM : 1908016021

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,



Arnia Sari Mukaromah, M.Sc.
NIP. 198709112018012001

NOTA DINAS

Semarang, 29 September 2023

Kepada

Yth. Dekan 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 Daun Muda dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)

Nama : Zhusna Nisha Maulida

NIM : 1908016021

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,



Asri Febriana, M.Si.
NIP.198902012019032015

ABSTRAK

Radikal bebas dapat ditemukan di lingkungan sekitar, antioksidan dapat membantu melindungi tubuh dari radikal bebas. Tumbuhan keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat dan lalapan di masyarakat. Semua tumbuhan memiliki potensi sebagai antioksidan, namun penelitian tentang aktivitas antioksidan tumbuhan keji ini belum ditemukan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan nilai IC₅₀ dan nilai FRAP serta aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa tumbuhan keji menggunakan metode *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji sebesar 1.766 ppm dan 2.028 ppm, hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya sangat lemah. Nilai FRAP daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji pada konsentrasi 500 µg/mL sebesar 131,7 mMol FeSO₄/g dw leaf extract dan 159,3 mMol FeSO₄/g dw leaf extract, nilai FRAP daun dewasa lebih tinggi daripada daun muda. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa daun keji memiliki potensi antioksidan yang rendah.

Kata kunci: Antioksidan, Daun Keji, DPPH, FRAP

ABSTRACT

Free radicals can be found in the surrounding environment, antioxidants can help protect the body from free radicals. Keji Plants (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze used as a medicinal plant and fresh vegetables in the community. All plants have potential as antioxidants, but research on the antioxidant activity of this keji plant has not been found. The aim of this research was to determine the IC₅₀ value and FRAP value as well as the antioxidant activity of young and mature leaves of keji plants using the method 1,1- *difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), and *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) method for measuring antioxidant activity. The research results showed that the IC₅₀ values of young leaves and mature leaves of the keji plant were 1,766 ppm and 2,028 ppm, these results indicate that their antioxidant activity is very weak. The FRAP value of young leaves and adult leaves of keji plants at a concentration of 500 µg/mL was 131.7 mMol FeSO₄/g dw leaf extract and 159.3 mMol FeSO₄/g dw leaf extract, the FRAP value of mature leaves was higher than young leaves. The research results show that keji leaves have low antioxidant potential.

Keywords: Antioxidants, Keji Leaves, DPPH, FRAP

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: 1581987 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	h
ش	sy	ء	'
ص	s}	ي	y
ض	d}		

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

Bacaan Diftong :
au = او
ai = اي
iu = اي

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT atas berkat dan hidayah-Nya yang senantiasa terlimpahkan. Sholawat serta salam kita haturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi teladan untuk umatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Aktivitas Antioksidan Daun Muda dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* [Blume] Kuntze)” sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S-1) pada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak yang membantu, mengarahkan, dan mendukung sepenuh hati. Sehingga pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Imam Taufiq, M. Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
2. Bapak Dr. H. Ismail, M. Ag., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
3. Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si., selaku ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
4. Arnia Sari Mukaromah, M.Sc., selaku dosen pembimbing I yang senantiasa memberikan ide-ide dalam penelitian,

perhatian luar biasa, banyak ilmu serta memberikan arahan dan bimbingan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini;

5. Asri Febriana, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan semangat, arahan dan bimbingan dengan sabar dan tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik;
6. Eko Purnomo, M.Si., selaku dosen wali yang senantiasa memberikan semangat dan bimbingan selama perkuliahan;
7. Sugiyanto dan Endang Susilowati selaku kedua orang tua penulis yang menjadi sumber penyemangat, selalu memberikan dukungan dan motivasi, doa yang tulus serta materi atas kelancaran penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan penulisan skripsi;
8. Sumiati, S.Pd., dan bapak Erwin Edy Wibowo, A.Md., selaku pengelola laboratorium terpadu yang senantiasa selalu siap membantu peneliti ketika kesulitan di laboratorium;
9. Bapak ibu dosen Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang khususnya di prodi Biologi yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama menempuh pendidikan;

10. Ninuk, Hana, Yasmin, Bulan, Riska, Rahmatya dan vivi selaku teman penulis yang senantiasa memberikan semangat serta dukungan, teman berkeluh kesah dan berbagi suka duka sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
11. Aisyah, Regi, Candra, Hana, Siti Fatimah serta masyarakat Desa Domiyang yang telah menemani penulis pada proses *sampling*;
12. Teman-teman Biologi Angkatan 2019 khususnya kelas A yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan;
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusi, doa, dan dukungan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran agar skripsi ini lebih baik. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Surabaya, 27 September 2023

Penulis



Zhusna Nisha Maulida

NIM. 1908016021

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA DINAS	iv
ABSTRAK.....	vi
TRANSLITERASI ARAB-LATIN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN PUSTAKA	6
A. Kajian Teori.....	6
1. <i>Staurogyne elongata</i> (Blume) Kuntz.....	6
2. Radikal bebas	11
3. Antioksidan.....	13
4. Ekstraksi.....	16
5. Uji aktivitas antioksidan	17

6. Spektrofotometri UV-VIS.....	19
7. Tinjauan islam tentang manfaat tumbuhan	23
B. Kajian hasil penelitian relevan.....	24
C. Hipotesis.....	26
BAB III. METODE PENELITIAN	27
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
B. Populasi dan Sampel Penelitian	28
C. Alat dan Bahan.....	28
D. Metode	29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. HASIL.....	36
1. Pengukuran parameter lingkungan.....	36
2. Ekstraksi daun muda dan dewasa tumbuhan keji <i>(staurogyne elongata (blume) kuntze)</i>	36
3. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH	37
4. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP	39
B. PEMBAHASAN.....	42
1. Parameter lingkungan di desa domiyang, Kec. Panninggaran, Kab. Pekalongan.....	42
2. Ekstraksi daun muda dan dewasa tumbuhan keji <i>(Staurogyne elongata (Blume) Kuntze)</i>	43
3. Aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa tumbuhan keji <i>(Staurogyne elongata (Blume) Kuntze)</i> menggunakan metode DPPH	45

4. Aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa tumbuhan keji (<i>Staurogyne elongata</i> (Blume) Kuntze) menggunakan metode FRAP	48
5. Perbandingan Metode Pengukuran aktivitas Antioksidan DPPH dan FRAP	51
6. Kaitan aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun muda dan dewasa tumbuhan keji.....	52
BAB V. PENUTUP.....	54
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	69
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Tumbuhan <i>S. elongate</i> (Blume) Kuntz	8
Gambar 2.2	Jenis Spektrofotometer	20
Gambar 2.3	Mekanisme Kerja Spektrofotometri UV-VIS	22
Gambar 3.1	Peta Lokasi Pengambilan Sampel	27
Gambar 4.1	Panjang gelombang maksimum DPPH	38
Gambar 4.2	Panjang gelombang maksimum FRAP	39
Gambar 4.3	Kurva Kalibrasi FeSO ₄	40
Gambar 4.4	Histogram Hasil Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP	41
Gambar 4.5	Mekanisme Kerja Reaksi DPPH	46
Gambar 4.6	Mekanisme Kerja Reaksi FRAP	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 2.1	Kandungan Senyawa Metabolit Daun Muda dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji	8
Tabel 2.2	Kandungan Senyawa Metabolit Akar Dan Batang Tumbuhan Keji	10
Tabel 2.3	Kajian Penelitian Relevan	24
Tabel 3.1	Kategori Aktivitas Antioksidan DPPH	34
Tabel 4.1	Parameter Lingkungan	36
Tabel 4.2	Rendemen Ekstrak Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji	37
Tabel 4.3	Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
Lampiran 1	Data Pengukuran Uji DPPH	69
Lampiran 2	Perhitungan Nilai IC ₅₀	72
Lampiran 3	Data Pengukuran Uji FRAP	73
Lampiran 4	Analisis Data	76
Lampiran 5	Foto-foto Penelitian	78

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas berasal dari luar dan dalam tubuh. Radikal bebas yang berasal dari luar yaitu efek obat, polusi asap rokok, polusi asap kendaraan, dan radiasi sedangkan yang berasal dari dalam tubuh berasal dari metabolisme tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya penyakit dan merusak sel-sel tubuh jika tubuh terpapar radikal bebas dalam jangka waktu lama (Fitriana *et al.*, 2013). Efek buruk lainnya yaitu memicu kanker, berpotensi merusak basa DNA, mempercepat penuaan (Lobo *et al.*, 2010; Pithava, 2016). Penyakit lainnya yang juga disebabkan oleh radikal bebas yaitu katarak, penyempitan pembuluh darah (*aterosklerosis*), jantung, rematik, diabetes, peradangan ginjal, kanker, dan hati (Khaira, 2010).

Antioksidan dapat mengurangi pembentukan radikal bebas. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua yaitu alami dan sintetik. Antioksidan sintetik mempunyai efek samping yang bersifat karsinogenik yang merugikan tubuh, hal ini dibuktikan dengan penelitian Al-Abdaly *et al.*, (2021) bahwa semua sampel tikus wistar yang diberi larutan BHT dosis 1g/kgBB mati dalam waktu 2-3 hari setelah perlakuan. Oleh karena itu, masyarakat lebih memilih antioksidan alami

karena mudah ditemukan dan harganya terjangkau. Antioksidan alami mudah ditemukan pada buah, sayur, bunga dan bagian lainnya dari tumbuhan. Berbagai kandungan yang ada pada tumbuhan seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, *polifenol, asam folat, antosianin, flavonoid* dapat menangkap radikal bebas serta mencegah penyakit akibat dari cekaman oksidatif (Rosahdi *et al.*, 2013). Antioksidan alami dapat ditemukan pada tumbuhan. Berdasarkan penelitian skrining fitokimia Mariani (2014) menunjukkan dalam tumbuhan keji memiliki kandungan senyawa flavonoid, steroid, tanin saponin, dan fenol. Sedangkan penelitian yang dilakukan Fatimah (2022) menunjukkan bahwa pada daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji mengandung senyawa metabolit yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan seperti *erytinol, phytol, neophytadiene, stigmasterol*. Oleh karena itu, tumbuhan yang berpotensi memiliki antioksidan salah satunya tumbuhan keji. Tetapi, tumbuhan ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai antioksidan alami antara daun muda dan daun dewasa sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

Kandungan senyawa di suatu tumbuhan berbeda pada setiap bagiannya. Kandungan senyawa pada daun muda dan daun dewasa memiliki perbedaan, hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti umur daun, kematangan daun, dan

ketinggian tempat tumbuhan. Seperti penelitian Felicia *et al.* (2016) dikatakan bahwa umur daun memiliki pengaruh terhadap kadar fenol dan flavonoid di daun alpukat. Sedangkan penelitian Utomo *et al.* (2020) membuktikan bahwa kondisi lingkungan mempengaruhi aktivitas antioksidan daun *Stachytarpheta jamaicensis*. Semakin tinggi cekaman suhu tempat tumbuhan, maka kadar senyawa flavonoid dan fenolik yang dihasilkan semakin tinggi, begitu juga dengan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan ini dapat diukur menggunakan beberapa metode yaitu metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC), *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), *2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid* (ABTS), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), dan lainnya.

Metode pengukuran antioksidan memiliki kelebihan dan kekurangan. Menurut Prissilla *et al.* (2022) DPPH adalah uji yang paling sering digunakan untuk penentuan kadar antioksidan karena selain biayanya yang murah, ketahanannya rendah, dan efektif untuk menguji senyawa flavonoid. Untuk menguatkan hasil dari DPPH maka dilakukan uji antioksidan menggunakan metode FRAP, metode FRAP juga memiliki kelebihan yaitu cukup sederhana, murah, reagennya mudah disiapkan, dan cepat (Maryam *et al.*, 2016). Menurut Blois (1958) aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat bila memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm pada uji DPPH,

sedangkan pada uji FRAP memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi bila nilainya lebih dari 400 $\mu\text{mol/g}$ (Fernandes *et al.*, 2016).

Berdasarkan senyawa potensi antioksidan yang ada dalam daun tumbuhan keji maka dilakukan penelitian terkait aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa tumbuhan keji menggunakan dua metode yaitu DPPH dan FRAP. Dari penelitian ini diharapkan agar bisa menjadi acuan aktivitas antioksidan daun keji serta menjadi kajian perbandingan metode DPPH dan FRAP.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah

1. Berapakah nilai IC_{50} DPPH dan nilai FRAP daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongate* (Blume) Kuntz)?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongate* (Blume) Kuntz) berdasarkan metode DPPH dan FRAP?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Menentukan nilai IC_{50} DPPH dan nilai FRAP daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongate* (Blume) Kuntz);

2. Untuk menganalisis aktivitas antioksidan daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongata*) (Blume) Kuntz berdasarkan metode DPPH dan FRAP.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat terhadap perkembangan penelitian tumbuhan *Staurogyne elongata* dalam bidang fitokimia khususnya kandungan senyawa antioksidan dan menjadi acuan untuk penelitian lainnya.

2. Manfaat praktis

- a. Bagi Penulis

- Dapat menambah wawasan serta pengetahuan tentang aktivitas antioksidan pada daun dari tumbuhan keji;
- Dapat menambah wawasan serta pengetahuan tentang metode DPPH dan FRAP.

- b. Bagi Masyarakat

- Menjadi informasi bagi masyarakat tentang aktivitas antioksidan pada daun tumbuhan keji;

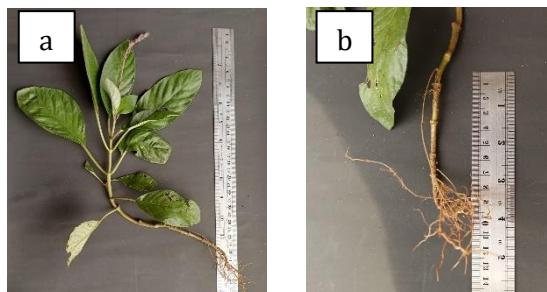
BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. *Staurogyne elongata* (Blume) Kuntz

Staurogyne elongate (Blume) Kuntz merupakan tumbuhan herba yang memiliki daun agak lebar, panjang, memiliki bulu halus, bunga berwarna putih keunguan yang biasanya muncul di tandan, bunga tumbuhan ini berbunga sepanjang tahun dengan mahkota berwarna putih. Tinggi tumbuhan ± 50 cm dan memiliki buah dengan bentuk bulat telur kecil. Daun tumbuhan ini selain dijadikan lalapan juga dimanfaatkan untuk pencegahan dan pengobatan batu ginjal (Alwi, 2019). Tumbuhan keji dapat dilihat di gambar 2.1.



Gambar 2. 1. (a) Tumbuhan *S. elongate* (Blume) Kuntz,
(b) akar *S. elongate* (Blume) Kuntz
(Dokumentasi pribadi, 2023)

Berikut klasifikasi tumbuhan keji menurut (GBIF, 2022)

Kingdom : *Plantae*

Phylum : *Tracheophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Order : *Lamiales*

Family : *Acanthaceae*

Genus : *Staurogyne Wall.*

Species : *Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze

Tumbuhan ini banyak dimanfaatkan untuk obat tradisional di Asia Tenggara, biasanya akar dan daun merupakan bagian yang digunakan untuk penyembuhan diuretik dan diare (Maulani *et al.*, 2014). Tumbuhan ini di Indonesia tersebar didaerah Sumatra dan Jawa, di daerah Sunda dikenal dengan nama reundeu sedangkan di daerah Jawa dikenal dengan daun keji (Hari. *et al.*, 2010).,

Selain untuk obat dan lalapan, masyarakat Sunda memanfaatkan tumbuhan keji sebagai perawatan alami kesehatan pasca melahirkan. Tumbuhan ini juga dimanfaatkan sebagai bahan ritual adat seperti yang dilakukan masyarakat Sunda di Bodogol yang memanfaatkan bunga tumbuhan keji untuk ritual adatnya dan ritual kegiatan pertanian di Kasepuhan Ciptagelar Sukabumi (Handayani & Hidayati, 2020).

Hasil penelitian skrining fitokimia Mariani (2014) menunjukkan dalam tumbuhan keji memiliki kandungan senyawa flavonoid, steroid, saponin, tanin, dan fenol. Kandungan Metabolit sekunder daun muda dan dewasa tumbuhan keji dapat dilihat pada tabel 2.1 (Fatimah, 2022), sedangkan pada akar dan batang dapat dilihat pada tabel 2.2 (Safitri, 2023).

Tabel 2. 1 Kandungan Metabolit Sekunder Daun Muda dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji

Jenis Daun	Nama Komponen	Area %
Muda	<i>Erythritol</i>	2.33
	<i>Pyrimidine-4,6-diol, 5-methyl-</i>	1.72
	<i>Benzofuran, 2,3-dihydro-</i>	4.05
	<i>1,2-Oxaborolane, 2-ethyl-4,5-dimethyl-</i>	3.04
	<i>Neophytadiene</i>	4.92
	<i>9-Eicosyne</i>	1.54
	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>	5.23
	<i>n-Hexadecanoic acid</i>	5.55
	<i>9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester</i>	7.64
	<i>9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester,</i> <i>(Z,Z,Z)-</i>	6.05
	<i>Phytol</i>	11.15
	<i>Methyl stearate</i>	3.68
	<i>(Z)-18-Octadec-9-enolide</i>	1.64
	<i>9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-</i>	2.61
	<i>Octadecanoic acid</i>	2.55
	<i>3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol</i>	1.52
	<i>Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-</i> <i>(hydroxymethyl)ethyl ester</i>	15.18

Jenis Daun	Nama Komponen	Area %
	<i>9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester, (Z,Z,Z)-Ethyl iso-allocholate Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester</i>	2.22 2.67 12.1
Dewasa	<i>DL-Arabinose Erythritol Pyrimidine-4,6-diol, 5-methyl-Benzofuran, 2,3-dihydro-Melezitose 2,7-Dioxa-tricyclo[4.4.0.0(3,8)]deca-4,9-diene 4-Cyclopropylcarbonyloxytetradecane 1,2-Oxaborolane, 2-ethyl-4,5-dimethyl-Hexadecanoic acid, methyl ester n-Hexadecanoic acid [1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester, (Z,Z,Z)-Phytol Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester Octadecanoic acid Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester Stigmasterol</i>	3.92 4.12 3.07 7.25 6.4 1.33 1.02 6.21 3.4 3.96 3.13 2.3- 1.39 1.48 3.1 1.11 8.81 8.59 31.71

Tabel 2. 2 Kandungan Metabolit Sekunder Batang dan Akar Tumbuhan Keji

Jenis Bagian	Nama Komponen	Area %
Akar	<i>Benzofuran, 2,3-dihydro-</i>	0,68
	<i>Dodecyl acrylate</i>	0,93
	<i>2,4-Di-tert-butylphenol</i>	1,23
	<i>Phthalic acid, butyl tetradecyl ester</i>	0,44
	<i>n-Hexadecanoic acid</i>	4,42
	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	1,44
	<i>Octadecanoic acid</i>	2,19
	<i>2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester</i>	1,19
	<i>Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-</i>	4,01
	<i>Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester</i>	1,55
	<i>Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester</i>	8,13
Batang	<i>2,4-Di-tert-butylphenol</i>	1,47
	<i>Neophytadiene</i>	0,42
	<i>2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-</i>	0,34
	<i>n-Hexadecanoic acid</i>	3,26
	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	1,40
	<i>3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol</i>	0,87
	<i>E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol</i>	0,74
	<i>n-Propyl 9,12-octadecadienoate</i>	1,88
	<i>Acetic acid n-octadecyl ester</i>	1,54
	<i>Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-</i>	33,08

2. Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang melepas atau kehilangan elektron. Akibat dari kehilangan elektron, radikal bebas menjadi tidak stabil, kemudian akan mengikat elektron dari molekul lainnya. Radikal bebas dari dalam tubuh bersumber dari hasil metabolisme, sedangkan radikal dari luar tubuh bersumber dari asap polusi, asap rokok, zat kimia makanan, paparan sinar UV, dan polutan lainnya. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kronis, tipe penyakit kronis ini membutuhkan waktu yang cukup lama untuk penyakitnya muncul. Contohnya yaitu penyakit jantung, kanker, katarak, dan penurunan fungsi ginjal. Antioksidan diperlukan guna menurunkan dan mencegah penyakit kronis dari radikal bebas (Mahmuda, 2018).

Radikal bebas memiliki sifat tidak stabil dan reaktif. oleh karena itu radikal bebas dapat menyerang lipid dan protein serta dapat memicu penyakit berbahaya. Radikal bebas dalam tubuh akan bereaksi dengan molekul lainnya dan menghasilkan radikal bebas lainnya (Pratama & Busman, 2020). Radikal bebas yang berikatan dengan molekul di dalam tubuh bisa mengoksidasi protein, asam nukleat, lemak, DNA sel, protein, dan memicu penyakit *degenartif* (Anliza & Hamtin, 2017).

Berdasarkan sumbernya radikal bebas berasal dari dalam serta luar tubuh.

a. Radikal bebas internal (dalam tubuh)

Radikal bebas yang paling sering ditemukan di tubuh yaitu radikal bebas turunan dari oksigen yaitu *Reactive Oksigen Spesies* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Spesies* (RNS). ROS ialah oksidan yang sangat reaktif, bila ditemukan dalam jumlah banyak dapat menyebabkan formasi peroksinitris yang berdampak pada kematian sel. ROS dapat diseimbangkan dengan antioksidan endogen seperti *lycopene*, *piruvat*, dan *glutation* (Nurhayati *et al.*, 2022). Sedangkan ROS pada tubuh ditemukan dalam bentuk radikal hidroksil (HO^{\cdot}), *superoksid anion* (O_2^-), dan lainnya (Berawi & Agverianti, 2017).

b. Radikal bebas eksternal (luar tubuh)

Radikal bebas ini bersumber dari asap rokok, alkohol, polusi udara, paparan sinar UV, dan obat-obatan tertentu seperti anestesi, pestisida, dan kemoterapi. Radikal bebas dapat dihasilkan dari pengolahan makanan berlebih seperti *overcook* dan penggunaan bahan masak yang tidak sehat. Contohnya penggunaan minyak goreng yang berulang kali digunakan tidak disarankan, karena sudah tidak layak pakai dan dapat melepaskan senyawa yang bersifat karsinogenik (Mahmuda, 2018).

3. Antioksidan

Antioksidan yakni senyawa yang bisa menghambat, menghalangi, memperlambat serta mencegah oksidasi lipid terjadi. Antioksidan bisa menetralkan radikal bebas yang ada di dalam tubuh dengan mendonorkan elektron miliknya, proses ini tidak mengganggu fungsi antioksidan karena radikal bebas menjadi akseptor elektron atau penerima elektron. Antioksidan dapat mencegah pembentukan radikal bebas dengan cara menghambat reaksi oksidasi (Sie, 2013). Tingginya kadar *malondialdehid* (MDA) dalam plasma dan rendahnya aktivitas antioksidan menunjukkan tingginya radikal bebas yang ada pada tubuh (Suirta & Asih, 2019).

a. Jenis-jenis antioksidan

Menurut sumber ditemukannya, antioksidan ada dua yaitu alami dan sintetik. Antioksidan alami diperoleh dari makanan yang kita konsumsi sehari-hari contohnya sayuran, kacang-kacangan, buah-buahan, dan makanan lainnya. Makanan yang mengandung antioksidan biasanya memiliki kandungan vitamin C, E, dan A, asam kafeat, asam elagat, asam klorogerat, serta senyawa flavonoid seperti *apigenin*, *kuersetin*, *kaemferol*, *luteolin*, dan *mirisetin*, sedangkan antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis reaksi kimia (Nur'amala, 2019).

Antioksidan sintetik contohnya *t-butil hidroksi anisol* (BHA) dan *ditbutil hidroksitoluen* (BHT) yang biasanya berfungsi untuk antioksidan pangan, tetapi adanya potensi efek samping berbahaya maka penggunaanya dibatasi. Oleh sebab itu, masyarakat beralih memilih antioksidan alami. Antioksidan alami lebih terjangkau, mudah ditemukan pada buah-buahan, sayuran serta tumbuhan yang ada di alam khususnya di Indonesia sendiri (Estiningtyas, 2010).

Menurut Mahmuda (2018) Antioksidan di tubuh juga memiliki berbagai jenis yaitu

- 1) Antioksidan primer, mencegah perkembangan radikal bebas baru.
- 2) Antioksidan sekunder, untuk menangkap serta menghambat pembentukan radikal bebas. Contoh antioksidan sekunder Vitamin C dan E, β - karoten, *Superoxide Dismutase* (SOD), *Glutathione Peroxidase* (GPx).
- 3) Antioksidan tersier, untuk memulihkan jaringan tubuh dirusak karena radikal bebas.

Walaupun berguna bagi tubuh, tetapi dalam penggunaannya tidak boleh berlebihan karena semakin tinggi konsentrasi antioksidan, maka akan hilang dan mungkin akan menjadi pro-oksidan (Nur'amala, 2019).

Agen pro-oksidan merupakan senyawa pemicu cekaman oksidatif yang menyebabkan kerusakan DNA (Ammendola & Scotto d'Abusco, 2020). Contoh senyawa prooksidan menurut Rahal *et al.*, (2014) hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorit ($HOCl$), peroksinitrit ($ONOO^-$), dan, mungkin, hidroksil (OH^\bullet) dan ozon (O_3).

b. Enzim antioksidan *Superoksid Dismutase* (SOD)

Enzim SOD disebut juga antioksidan endogen enzimatik atau antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh. salah satu contoh dari enzim ini adalah *Superoksid Dismutase* (SOD). Bila enzim ini di reaksikan dengan panas sifatnya tidak stabil, tetapi pada kondisi basa enzim ini cukup stabil. Aktivitas tertinggi enzim SOD ini ditemukan di hati, darah, limfa, otak, ginjal, lambung, timus, kelenjar adrenalin, usus, dan ovarium (Murray *et al.*, 2009; Parwata, 2016).

Melalui proses fosforilasi oksidatif tubuh menghasilkan senyawa radikal bebas. Berikut reaksinya



Penambahan empat elektron pada O_2 maka terjadi reduksi dan menjadi H_2O yang membentuk *anion superoksid*, dengan bantuan enzim SOD maka berubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Radikal bebas terbentuk karena proses fosforilasi yang tidak sempurna, maka saat

proses reduksi O₂ jumlah elektron tidak boleh kurang dari empat. Kerja enzim SOD dilihat dari banyak atau tidaknya produk peroksidasi lipid setiap organel, bila produk oksidasi lipid rendah maka aktivitas SOD tinggi. (Murray *et al.*, 2009; Parwata, 2016).

c. Fungsi antioksidan

Fungsi penting antioksidan yaitu mendonorkan atom hidrogen agar membentuk senyawa stabil, atom hidrogen berasal dari gugus hidroksil senyawa fenol. Antioksidan primer ialah antioksidan yang mendonorkan atom hidrogen. Fungsi kedua adalah sebagai pengikat oksigen, senyawa yang dapat mengikat oksigen akan bereaksi dengan oksigen dan tidak terlibat dalam reaksi oksidasi (Gordon, 1990).

Fungsi selanjutnya yaitu memperlambat laju auto oksidasi dengan mengubah radikal lipida menjadi lebih stabil. Antioksidan yang memiliki fungsi ini termasuk antioksidan sekunder seperti *dilauriltiopropionat* dan *asam tiodipropionat*. Senyawa ini dapat mendekomposisi hidroperoksid agar stabil dan menstabilkan polyolefin resin (Gordon, 1990).

4. Ekstraksi

Ekstraksi disebut juga proses pemisahan suatu bahan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dapat dihentikan

bila sudah mencapai kesetimbangan antara konsentrasi pelarut dan konsentrasi sel tumbuhan. Sifat bahan dan senyawa yang diteliti menentukan pemilihan metode ini, terdapat banyak jenis ekstraksi salah satunya maserasi (Mukhriani, 2014).

Merasasi ialah metode ekstraksi sederhana yang sering digunakan. Merasasi dilakukan dengan menambahkan sampel kering yang dicampur dengan pelarut yang cocok dalam satu tempat dengan tutup rapat. Bila tercapai kesetimbangan dilakukan penyaringan untuk memisah pelarut. Kekurangan metode ini yaitu pelarut yang dibutuhkan banyak dan memerlukan banyak waktu (Mukhriani, 2014). Keuntungan dari maserasi yaitu mudah dilakukan, minim merusak bahan alam karena tidak diperlukan pemanasan, pemilihan pelarut yang tepat dapat memudahkan pemisahan senyawa (Susanty & Bachmid, 2016).

5. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidraziL*)

DPPH dikembangkan oleh Blois pada tahun 1958. DPPH termasuk senyawa radikal yang stabil, mekanisme reaksi DPPH berlangsung melalui transfer elektron, atom hidrogen akan diambil oleh DPPH. ketika DPPH bertemu bahan pendonor elektron maka warna larutan yang ungu

akan memudar dan berubah menjadi warna kuning (Tristantini *et al.*, 2016). Semakin banyak DPPH direndam, maka larutan akan berubah menjadi warna yang pucat. Aktivitas antioksidan akan dilihat dari *inhibition concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} ialah nilai 50% dari DPPH yang kehilangan sifat radikal bebasnya (Nur'amala, 2019). Semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan, semakin banyak radikal bebas DPPH yang direduksi oleh senyawa antioksidan yang ada pada sampel karena adanya donor H sampel untuk molekul DPPH (Prissilla *et al.*, 2022).

Metode DPPH sering digunakan untuk mengukur kadar antioksidan karena mudah, cukup efisien, tidak membutuhkan substrat, cepat penggerjaanya, bisa direaksikan dengan sampel apapun, dan bisa menganalisis antioksidan dengan aktivitas lemah sekalipun. Kelemahan DPPH yaitu lebih mudah terdegradasi, jadi dalam penggerjaanya harus hati-hati dan cepat (Prakash, 2001; Mahmuda, 2018).

b. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metode FRAP merupakan metode penentuan kadar antioksidan, metode ini dikembangkan oleh Benzie dan strain pada tahun 1996 yang digunakan untuk mengukur daya reduksi besi plasma manusia, kemudian diadaptasi

oleh Pulido, Bravo, dan Saura-Calixto pada tahun 2000 untuk mengukur kadar antioksidan pereduksi besi dari ekstrak tumbuhan (Amarowicz & Pegg, 2019).

Pada uji FRAP vitamin C dapat digunakan untuk kontrol positif karena memiliki kandungan aktivitas yang tinggi dan alami sehingga aman. Aktivitas antioksidan pada uji ini ditandai dengan perubahan warna pada reduksi analog ferroin, Fe^{3+} akan menjadi Fe^{2+} yang berwarna biru, kemudian hasil uji diinterpretasikan dengan nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Keuntungan dari uji ini yaitu sederhana, efisien, cepat, reagen mudah disiapkan dan *reducible* (Maryam *et al.*, 2016).

6. Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode pengukuran serapan cahaya yang menggunakan panjang gelombang tertentu. Rentang panjang gelombang sinar ultraviolet (UV) yaitu 200-400 nm, sedangkan sinar tampak (*visible*) sebesar 400-750 nm (Romadhani, 2016).

Tipe instrumen spektrofotometer ada dua menurut Suhartati (2017) yaitu

- a. *Single beam*, berguna untuk pengukuran absorbansi panjang gelombang tunggal. Spektrofotometer jenis ini dapat dilihat di gambar 2.2(a), mengukur panjang

gelombang 190-210 nm (rendah) dan 800-1000 nm (tinggi). Keuntungannya adalah sederhana dan murah, sedangkan kekurangannya hanya ada satu arah cahaya yang diteruskan menjadikan kurang efisien dalam waktu penggerjaan.

- b. *Double beam*, memiliki pemecah sinar yang menjadikan adanya dua sinar yang dibentuk, mengukur pada panjang gelombang 190-750 nm, keuntungannya ialah dalam satu pengukuran nilai blanko dapat diukur bersamaan dengan larutan sampel. Spektrofotometer jenis ini dapat dilihat pada gambar 2.2(b).



Gambar 2. 2 Jenis Spektrofotometer (a) *Single Beam Thermo Scientific Genesys 40/50*, (b) *Double Beam Thermo Scientific Genesys 840-208100*

Adapun bagian-bagian dari spektrofotometri UV-Vis menurut Suarsa (2015) adalah:

- a. Sumber Cahaya, terdapat dua jenis lampu yaitu wolfram dan deuterium. Pada daerah tampak lampu

wolfram akan berfungsi, spektrum radiasinya garis melengkung, mempunyai panjang gelombang 350 - 2200 nm. Sedangkan pada daerah UV lampu deuterium akan berfungsi, memiliki panjang gelombang 190 - 380 nm, spektrumnya lurus.

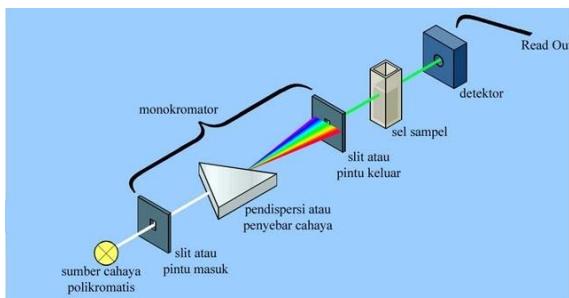
- b. Monokromator, dapat mengubah cahaya polikromatis menjadi monokromatis. Alat ini terdiri dari filter, prisma, celah optis, kisi difraksi.
- c. Kuvet, berguna untuk tempat menampung sampel, jenis kuvet yaitu kaca, kuarsa, dan plastik.
- d. *Detector*, berguna untuk menangkap sinar yang diteruskan oleh sampel kemudian diubah menjadi arus listrik.
- e. *Recorder*, yakni sistem pembacaan besarnya isyarat listrik yang dinyatakan dalam % transmitan atau absorbans.

Menurut Gandjar & Rohman (2008), beberapa hal harus diperhatikan dalam pengujian spektrofotometri, terutama pada senyawa yang tidak memiliki warna. Senyawa tersebut perlu diubah menjadi senyawa berwarna terlebih dahulu. Berikut hal-hal yang perlu diamati

- a. Pembentukan yang menyerap sinar tampak
- b. Pemilihan panjang gelombang

- c. Waktu operasional (*operating time*)
 - d. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan
- Keuntungan utama menggunakan metode spektrofotometri yaitu sederhana dalam menentukan kuantitas zat yang kecil, mempunyai ketelitian yang tinggi, dapat menganalisis banyak zat, hasil yang didapatkan cukup akurat, hasil dalam bentuk grafik regresi atau angka digital. (Mustikaningrum, 2015).

Prinsip kerja spektrofotometri ialah sumber cahaya dari akan diteruskan ke monokromator dan akan mengubah cahaya polikromatis menjadi monokromatis, cahaya monokromatis akan dilewatkan pada sampel yang memiliki zat atau senyawa tertentu, cahaya yang diterima akan dihitung detektor. Cahaya yang diabsorbsi sama seperti konsentrasi zat yang ada pada sampel, mekanisme kerja spektrofotometri dapat dilihat pada gambar 2.3 (Romadhani, 2016).



Gambar 2. 3 Mekanisme Kerja Spektrofotometri UV-VIS

7. Tinjauan Islam Tentang Manfaat Tumbuhan

Allah SWT menciptakan segalanya yang ada di muka bumi beraneka ragam semua bermanfaat dan mempunyai fungsi. Ciptaan-Nya yang bermanfaat salah satunya yaitu tumbuhan, tumbuhan ini banyak dimanfaatkan oleh manusia sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S 'Abasa ayat 24-32

فَلَيَنْظُرِ إِلَى إِنْسَنٍ إِلَى طَعَامِهِ ۝ ۲۴
 أَنَا صَبَّيْنَا الْمَاءَ صَبَّا ۝
 ۲۵ مِنْ شَقَقِنَا الْأَرْضَ شَقَّا ۝ فَأَبْنَيْنَا فِيهَا حَبَّا ۝ وَعَنْبَانَا وَقَضَبَنا
 ۲۶ وَرَزَقْنَا وَنَخَلًا ۝ وَحَدَائِقَ غَلَّباً ۝ وَفَنِكَهَةً وَأَبَانَا مَنْعَالًا لَكُنْ ۝
 ۲۷ ۲۸ ۲۹ ۳۰ ۳۱ ۳۲
 وَلَا تَغْمِكُنَّ ۝

Artinya:

"Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya (24) Sesungguhnya kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) (25) Kemudian kami belah bumi dengan sebaik-baiknya (26) Lalu kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu (27) Anggur dan sayur-sayuran (28), Zaitun dan kurma (29). Kebun-kebum (yang) lebat (30), dan buah-buahan serta rumput-rumputan (31), Untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu(32)".

Ayat di atas menurut (Hikmah, 2018) berdasarkan para mufasir Allah SWT menciptakan tumbuhan untuk keberlangsungan hidup makhluk hidup. Tumbuhan, buah, dan sayur diartikan sebagai nikmat dari Allah SWT yang di dalamnya terdapat banyak zat yang terkandung dan banyak manfaatnya, tumbuhan tidak hanya dikonsumsi sebagai sumber energi. Berkat ilmu pengetahuan tumbuhan juga dapat menjadi obat alami.

B. Kajian Hasil Penelitian Relevan

Kajian Penelitian yang relevan dapat dilihat pada tabel 2.3.

Nama Penulis	Hasil Penelitian
Mariani, (2014)	Menguji tentang kandungan senyawa dari tumbuhan <i>Staurogyne elongate</i> (Blume) Kuntz menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif, dan karakterisasi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-sinar tampak. Berdasarkan hasil penelitian Ria Mariani ditemukan bahwa tumbuhan keji memiliki senyawa flavonoid, steroid atau triterpenoid, saponin, tanin, dan fenol.
Winarti et al., (2019)	penelitian antioksidan ekstrak daun muda, daun tua dan pucuk daun mangrove <i>Sonneratia caseolaris</i> menggunakan metode DPPH, hasil

- menunjukkan bahwa nilai IC_{50} daun muda sebesar 13,99 ppm, daun tua sebesar 14,66 ppm, dan pucuk daun sebesar 12 ppm yang berarti ekstrak daun *Sonneratia caseolaris* memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat.
- Aryani *et al.*, (2021) Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun ulin memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat karena IC_{50} di bawah 100 ppm. Antioksidan ekstrak daun ulin tua dengan IC_{50} sebesar 13.31 ppm lebih kuat dibanding ekstrak daun ulin muda dengan IC_{50} sebesar 22.93ppm, hal ini dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam daun.
- Oktavia *et al.*, (2020) meneliti aktivitas antimikroba dan antioksidan dari ekstrak jamur endophytic berhubungan dengan *Chloranthus officinalis* blume dan *S. elongata* [Blume] Kuntz. Penelitian ini analisis antimikroba dilakukan dengan *dot blot* dan KLT sedangkan aktivitas antioksidan menggunakan uji DPPH dengan ekstrak metanol. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak jamur endofit dari kedua sampel memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada bakteri

	<p><i>Staphylococcus aureus</i> dan tumbuhan <i>S. elongata</i> [Blume] Kuntz memiliki aktivitas antioksidan sedang.</p>
Fatimah, (2022)	<p>Penelitian tentang identifikasi perbedaan senyawa metabolit sekunder diantara daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (<i>S. elongata</i> [Blume] Kuntze) dengan metode <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (GCMS). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada daun muda dan dewasa tumbuhan keji terdapat senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas antioksidan seperti <i>phytol</i>, <i>erythytol</i>, <i>stigmaterol</i>.</p>

C. Hipotesis

H0: tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan pada daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*S. elongata* [Blume] Kuntz) baik dengan metode DPPH dan FRAP.

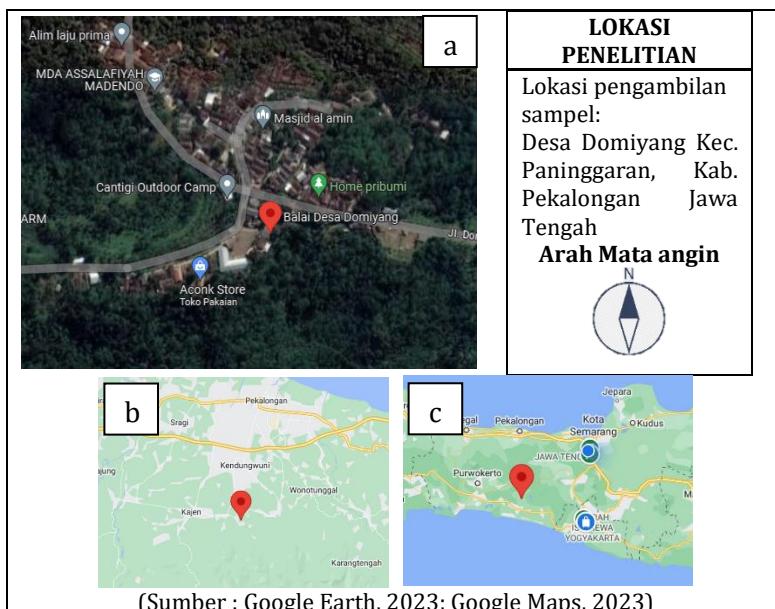
H1: ada perbedaan aktivitas antioksidan pada daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji (*S. elongata* [Blume] Kuntz) baik dengan metode DPPH dan FRAP.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Daun *S. elongata* [Blume] Kuntz diambil dari Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan Jawa Tengah. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST) Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang pada bulan Desember 2022 – September 2023. Peta lokasi *sampling* dapat dilihat pada gambar 3.1.



(Sumber : Google Earth, 2023; Google Maps, 2023)

Gambar 3. 1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel (a. Desa Domiyang, b. Kabupaten Pekalongan, c. Jawa Tengah)

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tumbuhan *S. elongata* [Blume] Kuntz yang berada di Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah daun muda dan daun dewasa tumbuhan *S. elongata* [Blume] Kuntz yang berada di Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan Jawa Tengah.

C. Alat dan Bahan

1. Alat penelitian

Alat-alat yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu gelas beaker (iwaki pyrex), tabung reaksi (iwaki pyrex), altimeter, lux meter, higrometer, pH meter, timbangan digital (HWH), mikropipet 100-1000 μ (DLab), rak tabung, batang pengaduk, labu erlenmayer, spektrofotometer UV VIS (*Orion Aquamate 8000 Thermo Scientific*), kuvet spektrofotometer, vortex, labu ukur (5, 10, 25, 50, 100 ml), spatula, cawan porselen, pipet tetes, kertas saring, toples kaca, oven (*Memmert*), blender (Panasonic MX-GX1462), alumunium foil, corong, *rotary evaporator* (DLab RE100 pro), pH meter solution (Hanna).

2. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang dibutuhkan ialah daun muda dan dewasa keji, akuades, metanol (Merck), TPTZ (*2,4,6-Tripyridyl-S-triazine*) Sigma Aldrich, FeCl_3 (Merck), FeSO_4 (Merck), sodium asetat (Merck), asam asetat glasial (Merck), asam askorbat (Merck), buffer asetat pH 3,6, HCL (Merck), silika gel, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) TCI Japan, Buffer pH 7,4, dan 10 (Merck).

D. Metode

1. Pengukuran parameter lingkungan

Parameter lingkungan yang diukur berupa faktor abiotik, seperti ketinggian, intensitas cahaya, kelembapan serta pH tanah, dan suhu udara.

2. Pengambilan sampel daun

Daun keji yang digunakan berasal dari pekalongan yang tumbuh liar di daerah sekitar hutan di Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan Jawa Tengah. Pengambilan sampel daun dilakukan dengan metode *simple random sampling* yaitu tumbuhan keji yang ditemukan di Desa Domiyang semua berpeluang sama untuk dijadikan sampel. Sampel yang digunakan adalah daun muda dan daun dewasa. Kriteria daun muda yaitu daunnya memiliki warna hijau muda, dan bertekstur halus. Sedangkan daun dewasa biasanya berwarna hijau tua,

lumayan kaku, dan bertekstur sedikit kasar. Kriteria pengambilan sampel daun ini juga dilakukan Fatimah (2022), dengan memperhatikan warna daun serta tekstur daun. Dalam penelitiannya daun muda dapat diambil pada tangkai daun nomor 1-4, sedangkan daun dewasa dapat diambil pada tangkai daun nomor 5-12.

Sampel daun yang sudah diambil kemudian dibersihkan dari kotoran atau bahan asing lain, yaitu dilakukan dengan membuang bagian yang tidak diperlukan untuk penelitian, maka didapatkan daun yang layak untuk digunakan. Daun yang layak digunakan untuk penelitian yaitu daun tidak terkena penyakit daun, tidak ada virus, tidak sobek, dalam kondisi bagus. Setelah itu bungkus daun yang sudah dibersihkan menggunakan aluminium foil yang di dalamnya terdapat silika gel.

3. Pengeringan sampel

Daun tumbuhan keji yang sudah disotir, dicuci menggunakan air mengalir agar kotoran dan tanah yang masih menempel hilang. Setelah dibersihkan daun dikeringkan menggunakan tisu atau kain dan dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 40°C-45°C, pengeringan dilakukan selama 3-5 hari (Febrianti *et al.*, 2021). Sampel daun kering dapat dihaluskan dengan

blender dan diayak agar mendapat ukuran sampel yang sama.

4. Ekstraksi

Sampel yang sudah diayak dilanjutkan dengan melakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Sampel daun sebanyak 50 gr direndam dengan metanol diambil dengan perbandingan 1:10, sampel diaduk kemudian larutan didiamkan selama 24 jam. Air rendaman ekstraksi disaring menggunakan kertas saring. Residu hasil rendaman kembali direndam dengan pelarut dan waktu yang sama. Proses ini dinamakan remaserasi dan dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah remaserasi berakhir dilakukan *rotary evaporator* untuk pemekatan. Ekstrak daun dilakukan pengeringan lagi menggunakan *waterbath* dengan suhu 37°C agar didapatkan ekstrak yang kental. Ekstrak kental disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan (Fatimah, 2022).

5. Analisis kandungan antioksidan menggunakan metode DPPH dan FRAP

a. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1 ml larutan DPPH konsentrasi 0.5 mM ditambahkan 1 ml metanol kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada kondisi gelap di suhu ruang selama

30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-650 nm.

2) Penentuan kadar antioksidan

Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH dilakukan berdasarkan penelitian Blois (1958). Sebanyak 1 mL sampel uji ditambahkan larutan 0,5 mM DPPH sebanyak 1 mL. Larutan uji diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap dan berada di suhu ruang. Kemudian diukur absorbansinya pada pajang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis, digunakan metanol sebagai blanko dan Vitamin C digunakan untuk kontrol positif (Yang *et al.*, 2012).

3) Optimasi rentang konsentrasi sampel

Rentang konsentrasi sampel ditentukan dari rentang 5, 50, 500, 5000 mg/ml, kemudian dipilih rentang konsentrasi yang berada di antara nilai IC₅₀.

4) Pembuatan larutan vitamin C

Larutan standar vitamin C 1000 ppm dibuat dengan menimbang 0,1 g asam askorbat, serbuk asam askorbat diencerkan dengan akuades dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan akuades sampai tanda batas. Dibuat larutan standar vitamin C 100 ppm dengan mengambil 10 ml larutan standar vitamin C 1000 ppm dalam labu takar 100 ml lalu ditambahkan akuades hingga tanda

batas dan dihomogenkan. Selanjutnya dibuat konsentrasi vitamin C dengan variasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm.

5) Penentuan Nilai IC₅₀

Dari data pengukuran antioksidan yang didapatkan, menurut Rahayu *et al.*, (2022) persen penghambatan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{penghambatan} = \frac{A_o - A_1}{A_o} \times 100\%$$

Keterangan

A_o : absorbansi kontrol negatif (blanko)

A₁ : absorbansi sampel

Nilai IC₅₀ dihitung dengan persamaan regresi linear yang dibuat dari konsentrasi sampel dan persentase penghambatan pembentukan radikal bebas. Dalam kurva regresi linear didapatkan persamaan (Syahriana *et al.* 2019) :

$$Y = a + bX$$

Keterangan

Y= % penghambatan (50%)

a= *Gradien*

b= *Konstan*

X= konsentrasi/nilai IC₅₀ yang dicari (ppm)

Persamaan garis linier dapat dibuat menggunakan Microsoft Excel 2016. Nilai IC₅₀ yang sudah didapatkan

kemudian dikategorikan aktivitasnya dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Kategori aktivitas antioksidan DPPH

Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori Antioksidan
<10	Sangat kuat
10-50	Kuat
51-100	Sedang
101-250	Lemah
>250	Sangat lemah

(Phongpaichit *et al.*, 2007)

b. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

1) Pembuatan Reagen FRAP

Reagen FRAP dibuat dari larutan 300 mM buffer asetat pH 3,6, 10 mmol/L larutan *2,4,6-Tripyridyl-S-triazine* (TPTZ) dalam HCL 40 mmol/L, dan FeCl 20 mmol/L, dicampur masing-masing larutan dengan perbandingan 10:1:1. Reagen FRAP dibuat segar sebelum digunakan untuk pengujian (Karolina & Wojtunik-Kulesza, 2020).

2) Penentuan kadar antioksidan

Pengukuran antioksidan metode FRAP mengacu pada penelitian Benzie & Strain, (1996) dan Banothu *et al.*, (2017). Sebanyak 0,4 mL sampel ditambahkan 2,4 ml reagen FRAP dalam tabung reaksi. Kemudian divortex

dan diinkubasi di suhu 37°C selama 20 menit dalam keadaan gelap. Setelah itu diukur pada panjang gelombang 593 nm. Larutan blanko dibuat dari reagen FRAP dan akuades, vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Larutan sampel dan vitamin C memiliki konsentrasi yang sama yaitu 100, 200, 300, 400, 500 µg/ml (Karolina & Wojtunik-Kulesza, 2020). Kurva kalibrasi dibuat dari FeSO₄ dengan konsentrasi 100, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µmol/L (Benzie & Strain, 1996).

3) Penentuan Nilai FRAP

Data uji FRAP akan dimasukkan dalam rentang absorbansi kurva standar FeSO₄ (100-2500µmol/L) dan dinyatakan dalam satuan mMol FeSO₄/g *dry weight of leaf extract*.

6. Analisis Data Statistik

Data nilai FRAP dilakukan analisis perbandingan dengan uji T-test menggunakan aplikasi SPSS versi 23. Uji T-test dapat dilakukan bila data per kelompok berdistribusi normal dengan uji normalitas. Data dapat dikatakan berdistribusi normal apabila pada uji normalitas nilai signifikansi $>0,05$. Pada uji T-test didasarkan pada nilai sig 2-tailed, apabila nilai sig 2-tailed $> 0,05$ maka H₀ diterima dan H₁ ditolak, hal ini berlaku sebaliknya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Pengukuran Parameter Lingkungan di Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan

Parameter lingkungan diambil untuk mendeskripsikan bagaimana keadaan tempat yang digunakan untuk pengambilan sampel daun muda dan dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze). Parameter yang diukur adalah suhu udara, pH tanah, kelembaban, intensitas cahaya, dan ketinggian tempat. Hasil pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4. 1 Parameter Lingkungan

Parameter lingkungan	Hasil pengukuran
Suhu udara	29°C
pH tanah	7,0
Kelembaban	81%
Intensitas cahaya	3000 Cd
Ketinggian tempat	480 mdpl

2. Ekstraksi Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze)

Ekstraksi daun muda dan dewasa tumbuhan keji dilakukan dengan metode maserasi, kemudian dilakukan

rotary evaporator untuk pemekatan ekstrak. Warna ekstrak yang dihasilkan dari daun muda dan dewasa tidak jauh berbeda yaitu berwarna hijau tua. Berat ekstrak dan rendemen daun yang didapatkan lebih banyak pada daun dewasa dibandingkan dengan daun muda. Hasil rendemen ekstrak daun muda dan dewasa tumbuhan keji dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4. 2 Rendemen Ekstrak Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji

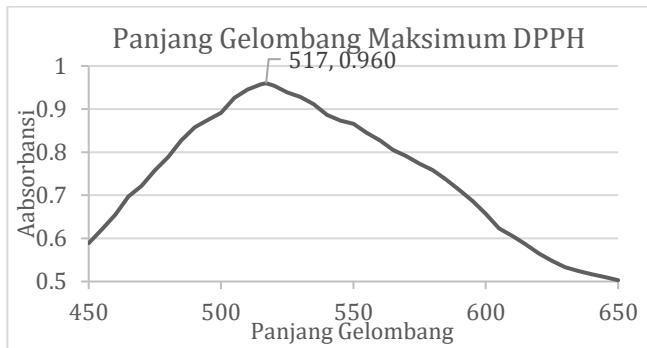
Jenis Daun	Berat Kering (g)	Berat Ekstrak (g)	Nilai Rendemen (%)
Muda	48 g	2,87 g	5,97 %
Dewasa	48 g	3,5 g	7,29 %

3. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

a. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa tumbuhan keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze) dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) ini dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum pada rentang 450-650 nm. Hasil dari penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 4.1. Dari gambar 4.1

dapat dilihat bahwa panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm.



Gambar 4. 1 Panjang gelombang maksimum DPPH

b. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif. Kurva standar vitamin C dapat dilihat pada gambar lampiran 1. Hasil pengukuran antioksidan dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Jenis Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori Antioksidan
Vitamin C	24,3	Kuat
Daun Muda	1.766	Sangat lemah
Daun Dewasa	2.031	Sangat lemah

*Kategori antioksidan pada uji DPPH, <10: Sangat kuat, 10-50:

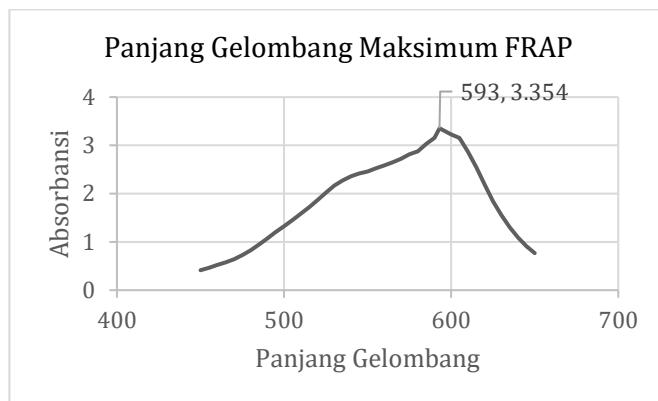
Kuat, 50-100: Sedang, 101-250: Lemah, >250: Sangat lemah

Pengukuran nilai IC₅₀ dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil uji DPPH didapatkan bahwa aktivitas antioksidan dari daun muda maupun daun dewasa termasuk dalam kategori sangat lemah, sedangkan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode FRAP

a. Hasil Penentuan Panjang Gelombang

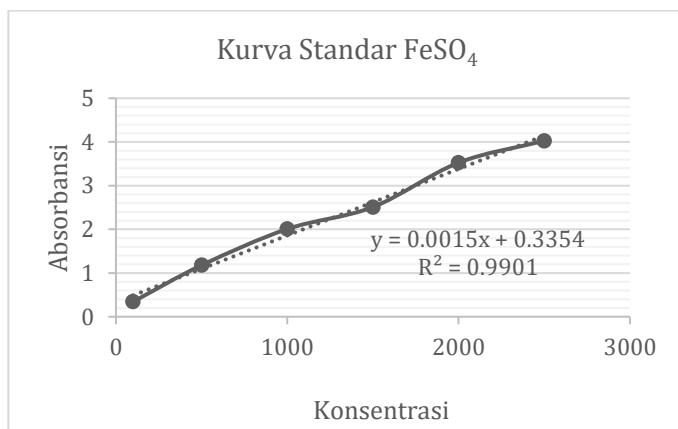
Pengukuran panjang gelombang uji FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) ditentukan pada rentang panjang gelombang 450-650 nm, hasil dari pembacaan didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 593 nm. Panjang gelombang ini menjadi panjang gelombang tetap pada penentuan uji FRAP ini. Hasil penentuan panjang gelombang bisa dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Grafik panjang gelombang maksimum FRAP

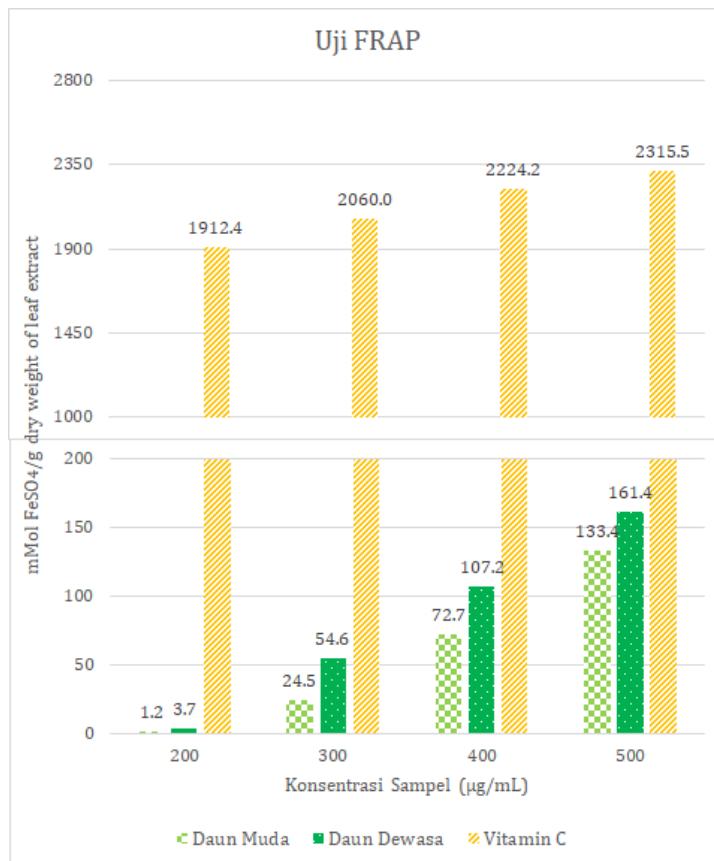
b. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

Pada uji FRAP FeSO_4 digunakan sebagai kurva kalibrasi yang berguna untuk penentuan nilai FRAP pada sampel. Berdasarkan hasil yang didapatkan, kurva kalibrasi FeSO_4 didapatkan persamaan regresi $y = 0.0015x + 0.3354$ dengan nilai koefisien regresi $r = 0,9901$. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Kurva Kalibrasi FeSO_4

Setelah mengetahui nilai absorbansi sampel maka nilai FRAP dapat dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi rata-rata ke dalam persamaan regresi kurva kalibrasi FeSO_4 . Vitamin C dalam uji FRAP digunakan sebagai kontrol positif, nilai FRAP dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hasil Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP

B. PEMBAHASAN

1. Parameter Lingkungan di Desa Domiyang, Kec. Paninggaran, Kab. Pekalongan

Tumbuhan keji ini diambil di Desa Domiyang, tumbuhan ini tumbuh liar di hutan yang lumayan dekat dengan pemukiman. Hasil pengukuran parameter lingkungan menunjukkan bahwa Desa Domiyang termasuk daerah dingin beriklim cenderung basah dengan kelembaban yang tinggi, memiliki intensitas cahaya yang rendah dan pH tanah tergolong netral. Hal ini sesuai dengan kriteria habitat dari tumbuhan keji yang dapat ditemukan di daerah pegunungan yang memiliki iklim tropis (Mariani, 2014).

Kondisi lingkungan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan seperti suhu dan intensitas cahaya, semakin tinggi suatu tempat maka suhu dan intensitas cahaya akan semakin kecil. Cahaya memiliki peran penting bagi tumbuhan hal ini juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Menurut Goh *et al.*, (2016) apabila suatu tumbuhan berada pada tempat dengan suhu yang tinggi maka produksi metabolit sekunder akan meningkat, produksi ini terjadi karena peningkatan radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS).

Berdasarkan penelitian Fatimah (2022) daun keji yang diambil untuk mengetahui senyawa metabolitnya diambil pada ketinggian 660 mdpl, sedangkan pada penelitian ini daun

keji diambil pada ketinggian 480 mdpl. Hal ini dapat menjadi faktor yang mempengaruhi produksi senyawa metabolit yang mengandung antioksidan, seperti penelitian Utomo *et al.*, (2020) yang meneliti tentang kandungan flavonoid daun pecut kuda yang diambil di Kopeng (suhu rendah) dan Semarang (suhu tinggi), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kadar flavonoid rata-rata sampel dari Semarang lebih tinggi daripada kadar flavonoid sampel Kopeng dan nilai IC₅₀ sampel Semarang lebih rendah daripada sampel Kopeng. Hal ini menunjukkan bahwa lokasi tumbuh suatu tumbuhan akan mempengaruhi kadar fenol, flavonoid dan aktivitas antioksidan pada daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis*. Begitu pula dengan penelitian Liu *et al.*, (2016) ketinggian menunjukkan korelasi yang signifikan dan positif terhadap aktivitas antioksidan *Potentilla fruticosa L*, yang berarti bahwa semakin tinggi suatu tempat maka aktivitas antioksidannya juga meningkat.

2. Ekstraksi Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze)

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi, metode maserasi banyak digunakan dan mudah dilakukan. Maserasi ini dilakukan dengan merendam sampel daun yang sudah diblender menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10. Pelarut metanol dipilih karena memiliki sifat yang lebih polar daripada etanol dan dapat mengikat komponen senyawa tumbuhan lebih banyak ialah

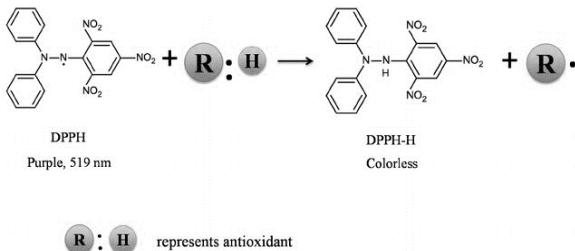
antosianin, terpenoid, saponin, tanin, totarol, quassinoïd, flavonoid, fenol, dan polifenol (Cowan, 2007). Perendaman dilakukan di wadah tertutup selama 1x24 jam yang kemudian disaring, residu hasil rendaman direndam kembali menggunakan pelarut yang sama, metode maserasi ini dilakukan sebanyak 3 kali, hal ini disebut remerasasi. Remerasasi dilakukan dengan tujuan untuk menarik semua senyawa yang tertinggal pada maserasi pertama. Setelah maserasi dilakukan *rotary evaporator* dengan tujuan penguapan pelarut agar didapatkan ekstrak yang pekat. Ekstrak ini kemudian diuapkan lagi dengan *waterbath* pada suhu 37°C agar menghasilkan ekstrak yang kental.

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa rendemen daun dewasa lebih tinggi daripada daun muda, rendemen daun dewasa lebih tinggi dapat disebabkan oleh adanya zat klorofil yang lebih banyak pada daun dewasa daripada pada daun muda. Walaupun warna ekstrak yang dihasilkan dari daun muda dan dewasa tidak jauh berbeda yaitu berwarna hijau tua, akan tetapi kandungan klorofil pada daun berbeda, semakin bertambahnya umur daun maka kadar klorofilnya akan meningkat. Kandungan klorofil pada daun dewasa yang berwarna hijau tua lebih tinggi 50% dari daun yang berwarna hijau muda (Solikhah *et al.*, 2019). Kadar klorofil juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan, penelitian Permadi *et al.*,

(2022) menunjukkan bahwa di antara sampel spirulina, bayam, brokoli, kangkung, kemangi, sawi, dan pakcoy. Kadar klorofil yang paling tinggi dihasilkan oleh spirulina dan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih bagus daripada sampel lainnya dengan nilai IC₅₀ sebesar 4.969 ppm.

3. Aktivitas Antioksidan Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze) Menggunakan Metode DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan guna mengetahui panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi, menkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran, mengurangi kesalahan dalam serangkaian pengukuran. Warna komplementer radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) yaitu berwarna ungu yang menjadikan absorbansi maksimumnya berada panjang gelombang 515-520 nm (Hasan *et al.*, 2022). Panjang gelombang 517 nm adalah hasil penentuan panjang gelombang maksimal DPPH, hal ini sesuai dengan (Blois, 1958). DPPH termasuk senyawa radikal yang stabil, mekanisme reaksi DPPH berlangsung melalui transfer elektron, atom hidrogen akan diambil oleh DPPH. Ketika DPPH bertemu bahan pendonor elektron maka warna larutan yang ungu akan memudar dan berubah menjadi warna kuning, perubahan warna ini dapat dilihat pada lampiran 5 (Tristantini *et al.*, 2016). Mekanisme kerja reaksi DPPH dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4. 5 Mekanisme Kerja Reaksi DPPH

Dalam uji DPPH tidak hanya konsentrasi uji yang dipertimbangkan tetapi waktu inkubasi, suhu, dan kondisi cahaya. Reagen DPPH bersifat tidak stabil maka dari itu reagen ini harus dibuat segar pada saat pengujian dan disimpan pada keadaan gelap. Pada pengujian sampel, ekstrak yang bereaksi dengan DPPH akan diinkubasi di suhu ruang selama 30 menit agar reaksi antara larutan uji dan DPPH berlangsung secara sempurna. Pengujian ini dilakukan dalam keadaan gelap karena larutan DPPH sangat sensitif terhadap cahaya (Purwanto *et al.*, 2017).

Pengukuran sampel menggunakan panjang gelombang yang sudah diukur sebelumnya yaitu 517 nm. Setelah didapatkan absorbansi dari masing-masing sampel kemudian dihitung nilai % penghambatannya kemudian dibuat persamaan regresi linier untuk nantinya menghitung nilai IC₅₀. Menurut Wulansari (2018), IC₅₀ merupakan besarnya kemampuan larutan uji menurunkan aktivitas radikal bebas

sebesar 50%, semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Berdasarkan tabel 4.3 diketahui bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak metanol daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji sebesar 1.766 ppm dan 2.028 ppm yang berarti aktivitas antioksidan daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji ini tergolong sangat lemah karena nilai IC₅₀ > 250 ppm. Penelitian yang dilakukan Pratiwi *et al.*, (2023) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 3.238 ppm.

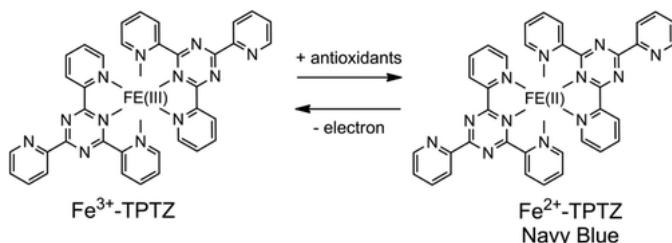
Faktor yang dapat menyebabkan sangat lemahnya aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh, pelarut yang digunakan kurang tepat, suhu penguapan, serta lama penyimpanan ekstrak dapat menyebabkan aktivitas antioksidan menurun. Pada penelitian Khotimah *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) mengalami penurunan aktivitas antioksidan setelah dua minggu penyimpanan pada suhu sejuk.

Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki nilai IC₅₀ sebesar 24,3 ppm yang berarti aktivitas antioksidan vitamin C tergolong kuat, hal ini sesuai dengan Membri *et al.*, (2021) bahwa vitamin C merupakan antioksidan sekunder alami yang dapat menangkap radikal bebas, mencegah reaksi berantai, memiliki tingkat antioksidan yang tinggi dan sifatnya lebih

polar daripada vitamin lainnya. Pada lampiran 4 dapat dilihat bahwa setiap kenaikan konsentrasi nilai absorbansinya menurun, hal ini disebabkan adanya proses stoikiometri yang mereduksi senyawa radikal bebas DPPH oleh senyawa yang mendonorkan hidrogen yang menjadikan DPPH menjadi senyawa yang stabil diikuti dengan perubahan warna (Hasan *et al.*, 2022).

4. Aktivitas Antioksidan Daun Muda Dan Dewasa Tumbuhan Keji (*Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze) Menggunakan Metode FRAP

Uji FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dilakukan dengan menghitung panjang gelombang maksimum pada rentang 450-650 nm. Hasil optimasi panjang gelombang maksimum ialah 593 nm. Uji FRAP digunakan karena reaksinya cepat, sederhana dan mudah dalam pembuatan reagennya (Benzie & Strain, 1996). Prinsip dari uji ini yaitu terjadi reduksi ion besi 2,4,6-tripyridyl-s-triazine kompleks $[Fe^{3+}-(TPTZ)_2]^{3+}$ menjadi kompleks besi berwarna biru $Fe^{2+}-(TPTZ)_2]^{2+}$ dalam kondisi asam. Reaksi berada pada pH asam berguna untuk menjaga kelarutan besi dan menjadikan kompleks lebih stabil (Gulcin, 2020). Mekanisme kerja reaksi FRAP dapat dilihat pada gambar 4.6.



Gambar 4. 6 Mekanisme Kerja Reaksi FRAP (Xiao *et al.*, 2020)

Larutan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi 100-2500 $\mu\text{mol/L}$ digunakan sebagai kurva kalibrasi. FeSO_4 yang direaksikan dengan reagen FRAP membentuk kompleks warna biru, pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 593 nm. Berdasarkan gambar 4.3 hasil dari absorbansi dibuat kurva regresi linier dan diperoleh persamaan $y = 0.0015x + 0.3354$ dengan nilai koefisien regresi $r = 0,9901$, nilai r yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi yang dibuat linier atau memiliki korelasi yang tinggi.

Reagen FRAP dibuat dari tiga bahan yaitu 300 mM buffer asetat pH 3,6, 10 mmol/L larutan *2,4,6-Tripyridyl-S-triazine* (TPTZ) dalam HCl 40 mmol/L, dan FeCl_3 20 mmol/L perbandingan pembuatan reagen ini 10:1:1. TPTZ berfungsi sebagai zat pengoksidasi sedangkan FeCl_3 berfungsi untuk pembentukan kompleks warna (Maryam *et al.*, 2016).

Pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak dua kali baik daun muda ataupun dewasa, dan kontrol positif yaitu vitamin

C. Pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang 593 nm, hasil dari pengukuran dapat dilihat pada lampiran 6. Dari hasil pengukuran kemudian nilai absorbansi sampel dihitung dengan persamaan yang sudah didapatkan dari kurva kalibrasi FeSO_4 , nilai FRAP dinyatakan dalam satuan $\text{mMol FeSO}_4/\text{g dry weight of leaf extract}$.

Berdasarkan histogram pada gambar 4.4 dapat dilihat bahwa sampel ekstrak daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji memiliki nilai FRAP yang lebih rendah daripada vitamin C, hasil ini menunjukkan bahwa sampel daun keji memiliki daya reduksi yang lemah daripada vitamin C. Walaupun dari kedua sampel nilai FRAP daun dewasa lebih tinggi daripada daun muda akan tetapi kedua sampel memiliki potensi antioksidan. Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian aktivitas antioksidan daun muda dan dewasa pada daun mangga dan alpukat yang dilakukan oleh Kingne *et al.*,(2019), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa daun muda lebih bagus aktivitas antioksidannya daripada daun dewasa pada metode uji FRAP. berdasarkan analisis uji T-test diketahui bahwa nilai sig 2-tailed $\text{FRAP} > 0,05$ yang berarti bahwa tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan, analisis uji ini yang dapat dilihat pada tabel lampiran 8.

5. Perbandingan Metode DPPH dan FRAP Pada Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Penelitian ini menggunakan DPPH dan FRAP untuk pengukuran aktivitas antioksidan, dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan. Pada uji DPPH nilai antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sedangkan pada uji FRAP hasilnya berupa nilai FRAP. Pada uji FRAP tidak dapat mendeteksi senyawa antioksidan berdasarkan transfer hidrogen seperti ABTS dan DPPH, hal ini dikarenakan uji FRAP lebih sensitif pada senyawa yang dapat mereduksi Fe serta mekanismenya berbasis transfer elektron. Dengan demikian, uji FRAP hanya digunakan sebagai data pelengkap (Prissilla *et al.*, 2022). Dalam penelitian Maesaroh *et al.*, (2018) DPPH menjadi metode yang efektif dan efisien dalam pengujinya dibandingkan dengan FRAP dan FIC (*Ferrous Ion Chelating*). Akan tetapi pada penelitian Thaipong *et al.*, (2006) uji FRAP lebih efektif dalam penentuan aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah jambu biji. Hal ini menunjukkan bahwa penentuan metode penting dilakukan sebelum penelitian. Pada pengukuran aktivitas antioksidan akan lebih baik bila metode yang digunakan lebih dari 1 metode agar dapat melihat perbedaan dengan lebih detail, dan penguatan hasil penelitian.

6. Kaitan Aktivitas Antioksidan Dengan Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Muda dan Dewasa Tumbuhan Keji

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak daun muda lebih baik meredam radikal bebas DPPH daripada daun dewasa hal ini dapat disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun muda lebih banyak. Berdasarkan penelitian Fatimah (2022) senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan lebih banyak ditemukan pada daun muda daripada daun dewasa tumbuhan keji, senyawa metabolit pada daun muda tumbuhan keji yang memiliki potensi antioksidan yaitu *phytol* dan *erythritol*. Senyawa *phytol* ditemukan paling banyak di antara senyawa lainnya pada daun muda dengan luas area sebesar 11,15%. Menurut penelitian Santos *et al.*, (2013) *phytol* atau fitol memiliki aktivitas antioksidan, hal ini bisa terjadi karena fitol merupakan senyawa terpenoid. Fitol bereaksi dengan radikal bebas dan menyumbangkan atom hidrogen dengan elektron tidak berpasangan lalu mengurangi radikal bebas. Senyawa eritritol juga memiliki aktivitas antioksidan, menurut penelitian Hartog *et al.*, (2009) menunjukkan bahwa eritritol terbukti menjadi pemulung radikal HO* yang sangat baik dan penghambat hemolisis yang diinduksi 2,2'-azobis-2-amidinopropane dihydrochloride, ditandai dengan melindungi kerusakan

pembuluh darah akibat hiperglikemia ditandai adanya eritrosa pada urin tikus.

Berdasarkan hasil nilai FRAP daun dewasa memiliki nilai lebih tinggi daripada daun muda. Berdasarkan penelitian Fatimah (2022) menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan ialah *stigmasterol*, *phytol* dan *erythritol*. Diantara ketiga senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan stigmasterol memiliki luas area yang lebih besar yaitu 31,71%. Menurut penelitian Bakrim *et al.*, (2022) stigmasterol dapat mengurangi produksi ROS pada tikus diabetes, yang berarti bahwa stigmasterol menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Selain antioksidan senyawa ini juga dapat berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi, anti diabetes, dan antikanker. Berdasarkan penjelasan tersebut daun tumbuhan keji memiliki aktivitas antioksidan.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah

1. Nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji sebesar 1.766 ppm dan 2.028 ppm. Nilai FRAP ekstrak metanol daun muda dan daun dewasa tumbuhan keji pada konsentrasi 500 µg/mL sebesar 131,7 mMol FeSO₄/g *dw leaf extract* dan 159,3 mMol FeSO₄/g *dw leaf extract*;
2. Berdasarkan kedua metode uji yang dilakukan terdapat perbedaan aktivitas antioksidan. Pada uji DPPH ekstrak daun keji tergolong sangat lemah namun daun muda memiliki nilai IC₅₀ yang lebih bagus, dan pada uji FRAP daun dewasa memiliki nilai FRAP yang lebih tinggi daripada daun muda. Dari kedua metode hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel daun muda dan dewasa tumbuhan keji lebih lemah daripada kontrol positif vitamin C.

B. Saran

1. Melakukan pengukuran antioksidan tidak hanya dengan satu atau dua metode, dapat ditambahkan satu metode lagi misalnya *2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid* (ABTS).

2. Melakukan riset antikanker, antiinflamasi, antidiabetes atau antifungi guna mengetahui potensi manfaat lain dari daun tumbuhan keji.
3. Melakukan riset mengenai pengaruh berbagai pelarut terhadap antioksidan tumbuhan keji.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Abdaly, Y. Z., Al-Hamdany, E. K., & Al-Kennany, E. R. (2021). Toxic effects of butylated hydroxytoluene in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(1), 121–128. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2020.126435.1322>
- Alwi, A. B. (2019). *Studi Etnobotani Tumbuhan Pengantisipasi Hama Padi (Oryza Sativa L.) Pada Suku Baduy Di Kecamatan Leuwidamar Kabupaten Lebak Provinsi Banten*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. In *Functional Food Ingredients from Plants* (1st ed., Vol. 90). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>
- Ammendola, S., & Scotto d'Abusco, A. (2020). Oxidative stress, senescence and Mediterranean diet effects on osteoarthritis. *Aging: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 73–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818698-5.00007-9>
- Anliza, S., & Hamtin. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dari Daun *Alocasia Macrorrhizos* dengan Metode Dpph. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan*, 4(1), 101–106.

- Aryani, F., Novari, F., Naibaho, N. M., & Paurru, P. (2021). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Buletin Loupe*, 17(01), 21–27. <https://doi.org/10.51967/buletinloupe.v17i01.480>
- Bakrim, S., Benkhaira, N., Bourais, I., Benali, T., Lee, L.-H., Omari, N. El, Sheikh, R. A., Goh, K. W., Ming, L. C., & Bouyahya, A. hakim. (2022). Health Benefits and Pharmacological Properties of Stigmasterol. *Antioxidants*, 10(1912).
- Banothu, V., Neelagiri, C., Adeppally, U., Lingam, J., & Bommareddy, K. (2017). Phytochemical screening and evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant *Albizia odoratissima*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1155–1161. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1291694>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Berawi, K. N., & Agverianti, T. (2017). Efek Aktivitas Fisik pada Proses Pembentukan Radikal Bebas sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis Physical Activity Effects on Free Radicals Development as Risk Factor of Atherosclerosis. *Jurnal Majority*, 6(2), 85–90.

- Blois. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
- Cowan, M. M. (2007). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
<https://doi.org/10.3390/curroncol14040004>
- Estiningtyas. (2010). *Aplikasi Edible Film Maizena dengan Penambahan Ekstrak Jahe sebagai Antioksidan Alami pada Coating Sosis Sapi*.
- Fatimah, S. (2022). *Kandungan Metabolit Sekunder Daun Muda Dan Daun Dewasa Tumbuhan Keji (Staurogyne Elongata [Blume] Kuntze) Asal Kabupaten Pekalongan*. UIN Walisongo Semarang.
- Febrianti, D. R., Ariani, N., & Niah, R. (2021). Antioksidan Daun Kumpai Mahung (*Eupatorium inulifolium* H.B&K). *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 94–100.
- Felicia, N., Widarta, I. W. R., & Yusasrini, N. L. A. (2016). Pengaruh ketuaan daun dan metode pengolahan terhadap aktivitas antioksidan dan karakteristik sensoris teh herbal bubuk daun alpukat (*Persea americana* Mill.). *ITEPA*, 5(2), 85–95.
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Lima, C. G., Pugine, S. M. P., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., & de Melo, M. P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster

- analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 451–460.
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1994-x>
- Fitriana, Kuntorini, M, E., & Astuti, D, M. (2013). Struktur Anatomii dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding Semirata*, 291–295.
- Gandjar, & Rohman. (2008). *Kimia Farmasi Analis* (3rd ed.). Pustaka Pelajar.
- GBIF. (2022). *Staurogyne elongata* (Blume) Kuntze. <https://www.gbif.org/species/3774431>
- Goh, H.-H., Khairudin, K., Sukiran, N. A., Baharum, S. N., & Noor, N. M. (2016). Metabolite Profiling Reveals Temperature Effects on the VOCs and Flavonoids of Different Plant Populations. *Plant Biol (Stuttg)*, 130–139.
<https://doi.org/10.1111/plb.12403>
- Gordon. (1990). *The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro*. In Hudson, B.J.F., Ed., *Food Antioxidants*. Springer.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94, 651–715.
- Handayani, A., & Hidayati, S. (2020). *Staurogyne elongata* (Nees) Kuntze Acanthaceae. In: Franco, F. (eds) *Ethnobotany of the Mountain Regions of Southeast Asia*.

- Ethnobotany of Mountain Regions.* Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-14116-5_49-1
- Hari., P., G., T., I., R., B., S., W, I. N., & I., R. (2010). *Five hundred plant species in Gunung Halimun Salak National Park, West Java: a checklist including Sundanese names, distribution and use.* Center for International Forestry Research (CIFOR). <https://doi.org/10.17528/cifor/003235>
- Hartog, G. J. M. den, Boots, A. W., Adam-Perrot, A., Brouns, F., Verkooijen, W.C.M., I., Weseler, A. R., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2009). Erythritol is a sweet antioxidant. *Nutrition*, 26(4), 449–458.
- Hasan, H., Ain Thomas, N., Hiola, 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*, 1(3), 67–73. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>
- Hikmah, B. (2018). *Manfaat Tumbuhan bagi manusia (Studi Sains atas Surah ‘Abasa 24 -32).* UIN Sunan Ampel.
- Karolina, A., & Wojtunik-Kulesza. (2020). Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes. *Molecules*, 25, 1–11. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25225267>

- Khaira, K. (2010). Menangkal Radikal Bebas Dengan Antioksidan. *Jurnal Sainstek*, 11(2), 183–187.
- Khotimah, H., Agustina, R., & Ardana, M. (2018). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 8(November 2018), 1–7.
<https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.295>
- Kingne, F. K., Djikeng, F. T., Tsafack, H. D., Karuna, M. S. L., & Womeni, H. M. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of young and mature mango (*Mangifera indica*) and avocado (*Persea americana*) leave extracts. *International Journal of Phytomedicine*, 10(4), 181.
<https://doi.org/10.5138/09750185.2289>
- Liu, W., Yin, D., Li, N., Hou, X., Wang, D., Li, D., & Liu, J. (2016). Influence of environmental factors on the active substance production and antioxidant activity in *Potentilla fruticosa* L. and its quality assessment. *Scientific Reports*, 6(28591), 1–18.
<https://doi.org/10.1038/srep28591>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals , antioxidants and functional foods : Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.
<https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Anshori, J. Al. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93–100.
- Mahmuda, N. A. (2018). Uji kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dan batang sembukan (*Paederia foetida* Linn) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) [UIN Alauddin Makasar]. In *Skripsi*.
- Mariani, R. (2014). *Isolasi senyawa turunan fenol dari herba reundeu (Staurogyne elongata (Blume) O. Kuntze)*. Universitas Garut.
- Maryam, S., Baits, M., & Nadia, A. (2016). Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Menggunakan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 115–118. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.181>
- Maulani, M. I., Purwanti, L., & Dasuki, U. A. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Reundeu [*Staurogyne elongata* (Bl .) O . K] terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Prosiding Farmasi*, 565–569.
- 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>
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2009). *Biokimia Harper, (Andri Hartono)* (Edisi 27). Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Mustikaningrum. (2015). *Aplikasi Metode Spektrofotometri Visibel Genesys20 Untuk Mengukur Kadar Curcuminoid Pada Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza)*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Nur'amala, P. I. (2019). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). In *Universitas Islam Negeri Raden Intan Press*. Universitas Islam Negeri Raden Intan.
- Nurhayati, N., Qonitah, F., & Ahwan, A. (2022). Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(1), 84. <https://doi.org/10.31764/lf.v3i1.7457>
- Oktavia, L., Ilyas, M., & Agusta, A. (2020). *The Antimicrobial And Antioxidant Activity Of Endophytic Fungi Extract Associated With Chloranthus Officinalis Blume And Staurogyne Elongata Kuntze*. 5(1), 131–140.

- Parwata, I. M. O. A. (2016). *Bahan Ajar: Antioksidan* (Issue April). Udayana Press.
- Permadi, A., Suhendra, Ahda, M., Zufar, A. F., Padya, S. A., Anugrah, N., Hadi, S., & Suharto, T. E. (2022). Perbandingan Kandungan Klorofil dan Antioksidan Spirulina dengan Beberapa Jenis Sayuran. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*, 1–7. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., & Rukachaisirikul, V. K. K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from Garcinia plants. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Pithava, A. (2016). Current Prospects of Herbal Medicines in the World. *JPRPC*, 4(4), 60–70.
- Prakash. (2001). "Antioxidant Activity," *Analytical Progress*. 19.
- Pratama, & Busman. (2020). Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max L*) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(1), 497–504.
- Pratiwi, Yusran, Islawati, & Artati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *BIOMA : Jurnal Biologi Makassar*, 8(2), 66–74.

- Prissilla, A., Nastiti, H., Lisna, W., & Nuringtyas, T. R. (2022). Antioxidant Activity Evaluation of Agarwood *Aquilaria malaccensis* Lamk . Leaves Extract Using DPPH , FRAP and ABTS Assays. *Advances in Biological Sciences Research*, 22, 18–25.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah purnasjiwa (*Kopsia arborea* Blum) dengan berbagai pelarut. *Kovalen*, 3(1), 24–32.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, 1–19.
<https://doi.org/10.1155/2014/761264>
- Rahayu, D. U. C., Hakim, R. A., Mawarni, S. A., & Satriani, A. R. (2022). Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*): Extraction, Flavonoid Content, Antioxidant Activity, and Stability in the Presence of Ascorbic Acid. *Cosmetics*, 9(57), 1–15.
- Romadhani. (2016). *Aplikasi Metode Spektrofotometri Visibel Genesys20 Untuk Mengukur Kadar Curcuminoid Pada Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza)*. Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Rosahdi, T. D., Kusmiyati, M., & Wijayanti, F. R. (2013). Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapiah Dengan Metode DPPH. *Jurnal Istek*, VII(1).

- Safitri, H. (2023). *Kandungan Metabolit Sekunder Batang dan Akar Tumbuhan Keji (Staurogyne elongata (Blume) Kuntze)*. UIN Walisongo Semarang.
- Santos, C. C. de M. P., Salvadori, M. S., Mota, V. G., Costa, L. M., Almeida, A. A. C. de, Oliveira, G. A. L. de, Costa, J. P., Sousa, D. P. de, Freitas, R. M. de, & Almeida, R. N. de. (2013). Antinociceptive and Antioxidant Activities of Phytol In Vivo and In Vitro Models. *Neurosci J*, 949452.
- Sie, J. O. (2013). Daya antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) hasil pengadukan dan reflux. *Calyptra*, 2(1), 1–10.
- Solikhah, R., Purwantoyo, E., & Rudyatmi, E. (2019). Aktivitas antioksidan dan kadar klorofil kultivar singkong di daerah wonosobo. *Life Science*, 8(1), 86–95. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/LifeSci>
- Suarsa, I. W. (2015). *Spektroskopi*. Udayana Press.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-dasar Spektroskopometri UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. AURA Anugrah Utama Raharja.
- Suirta, I. W., & Asih, I. A. R. A. (2019). Suplemen Ekstrak Daun Sirih, Piper Betle, Lin Dalam Menurunkan Kadar Malondialdehid Pada Tikus Wistar. *Jurnal Kimia*, 13(2), 185–190.

- Susanty, & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Konversi*, 5(2), 87–93.
- Syahriana, Y., Desnita, R., & Luliana, S. (2019). Verifikasi Metode Analisis Larutan Alpha Arbutin Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-2450. *Jurnal Farmasi Kalbar*, 4(1), 1–7.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-zevallos, L., & Hawkins, D. (2006). Comparison of ABTS , DPPH , FRAP , and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669–675.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. (2016). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L*). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, 1.
<http://jurnal.upnyk.ac.id/index.php/kejuangan/article/view/1547>
- Utomo, D. S., Betty, E., & Kristiani, E. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid , Fenolik , Klorofil , Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan

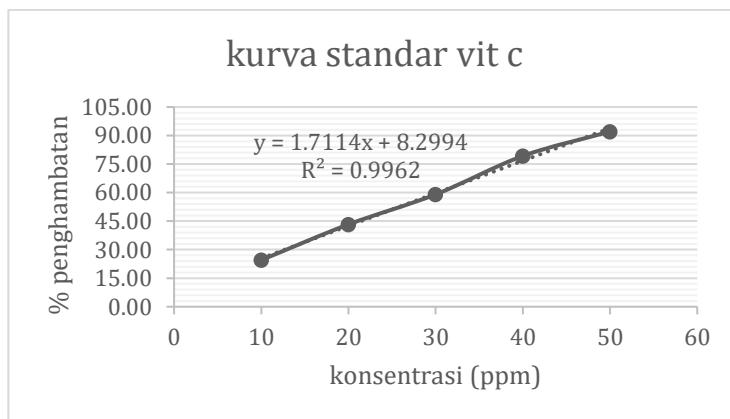
- Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*) The Effect of Growth Location on Flavonoid , Phenolic , Chlorophyll , Carotenoid and Antiox. *BIOMA*, 22(2), 143–149.
- Winarti, Setya, B. R., & Soedarmo. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia caseolaris* Berdasarkan Tingkat Kematangan Daun. *Journal of Marine and Coastal Science*, 8(3), 130–138.
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varigiaeefolium*) sebagai Antioksidan Alami : Review. *Farmaka*, 16(2), 419–429.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>
- Yang, C., Li, R., & Chuang, L. (2012). Antioxidant Activity of Various Parts of *Cinnamomum cassia* Extracted with Different Extraction Methods. *Molecules*, 17, 7294–7304. <https://doi.org/10.3390/molecules17067294>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Pengukuran Menggunakan Metode DPPH

Tabel Lampiran 1. Data Pengukuran Larutan Vitamin C

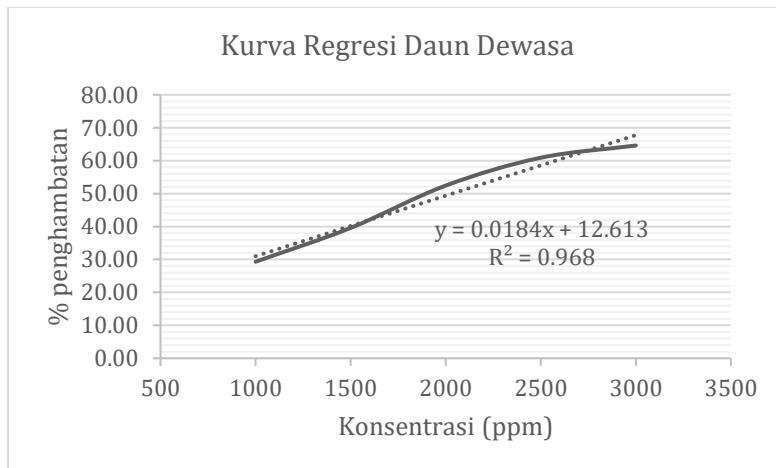
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-	%
	1	2	3	rata	<i>Inhibition</i>
Kontrol	2.526	2.533	2.456	2.505	-
10	1.868	1.912	1.893	1.891	24.51
20	1.374	1.416	1.472	1.421	43.29
30	0.857	1.036	1.184	1.026	59.06
40	0.214	0.794	0.551	0.520	79.25
50	0.154	0.182	0.258	0.198	92.10



Gambar Lampiran 1. Kurva Regresi Vitamin C

Tabel Lampiran 2. Data Pengukuran Ekstrak Daun Dewasa

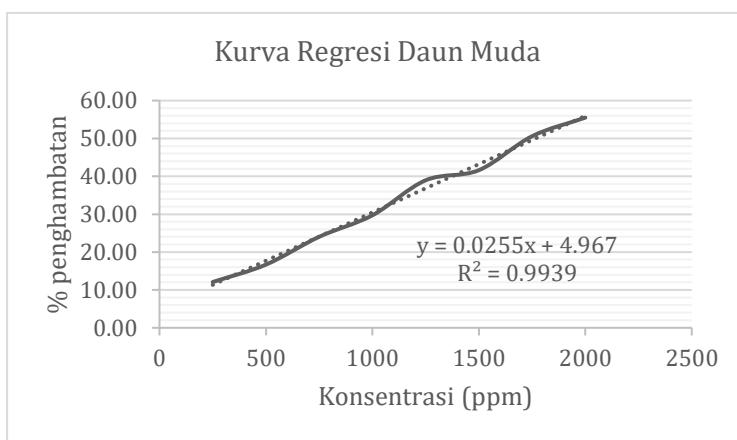
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata	% <i>Inhibition</i>
	1	2	3		
kontrol	2.347	2.467	2.466	2.427	-
1000	1.819	1.653	1.674	1.715	29.31
1500	1.503	1.409	1.486	1.466	39.59
2000	1.159	1.152	1.152	1.154	52.43
2500	0.929	0.973	0.945	0.949	60.89
3000	0.851	0.851	0.875	0.859	64.60



Gambar Lampiran 2. Kurva Regresi Daun Dewasa

Tabel Lampiran 3. Data Pengukuran Ekstrak Daun Muda

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata- rata	% <i>Inhibition</i>
	1	2	3		
kontrol	2.776	2.777	2.777	2.777	-
250	2.449	2.392	2.482	2.441	12.09
500	2.345	2.248	2.347	2.313	16.69
750	2.119	2.061	2.148	2.109	24.03
1000	1.969	1.874	2.012	1.952	29.71
1250	1.700	1.633	1.752	1.695	38.96
1500	1.580	1.569	1.714	1.621	41.62
1750	1.359	1.347	1.410	1.372	50.59
2000	1.161	1.278	1.268	1.236	55.50



Gambar Lampiran 3. Kurva Regresi Daun Muda

Lampiran 2. Perhitungan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung dari rumus persamaan linear yang sudah didapatkan dengan mengganti nilai y menjadi 50.

- a. Vitamin C

$$y = 1.7114x + 8.2994$$

$$50 = 1.7114x + 8.2994$$

$$50 - 8.2994 = 1.7114x$$

$$x = 24,3 \text{ ppm}$$

- b. Daun Dewasa

$$y = 0.0184x + 12.613$$

$$50 - 12.613 = 0.0184x$$

$$x = 2.031 \text{ ppm}$$

- c. Daun Muda

$$y = 0.0255x + 4.967$$

$$50 - 4.967 = 0.0255x$$

$$x = 1.766 \text{ ppm}$$

Lampiran 3. Data Pengukuran Menggunakan Metode FRAP

Tabel Lampiran 4. Data Uji FRAP Ulangan 1

Jenis Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata- rata	Nilai Frap (*)	SD ($\mu\text{g/mL}$)
		1	2	3			
Daun Muda	200	0.338	0.329	0.341	0.336	0.4	0.0062
	300	0.369	0.375	0.371	0.372	24.2	0.0031
	400	0.437	0.454	0.432	0.441	70.4	0.0115
	500	0.538	0.528	0.533	0.533	131.7	0.0050
Daun Dewasa	200	0.341	0.338	0.343	0.341	3.5	0.0025
	300	0.410	0.414	0.423	0.416	53.5	0.0067
	400	0.497	0.488	0.492	0.492	104.6	0.0045
	500	0.558	0.598	0.567	0.574	159.3	0.0210
Vitamin C	200	3.197	3.205	3.210	3.204	1912.4	0.0066
	300	3.390	3.452	3.434	3.425	2060.0	0.0319
	400	3.671	3.669	3.675	3.672	2224.2	0.0031
	500	3.778	3.832	3.816	3.809	2315.5	0.0277

(*): mMol FeSO₄/g dry weight of leaf extract. SD : standar deviasi,

Tabel Lampiran 5. Uji FRAP ulangan 2

Jenis Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata	Nilai Frap (*)	SD ($\mu\text{g/mL}$)
		1	2	3			
Daun Muda	200	0.342	0.334	0.339	0.338	1.956	0.0040
	300	0.373	0.380	0.365	0.373	24.844	0.0075
	400	0.446	0.461	0.437	0.448	75.067	0.0121
	500	0.532	0.534	0.548	0.538	135.067	0.0087
Daun Dewasa	200	0.333	0.347	0.344	0.341	3.956	0.0074
	300	0.412	0.42	0.425	0.419	55.733	0.0066
	400	0.508	0.491	0.501	0.500	109.733	0.0085
	500	0.573	0.583	0.586	0.581	163.511	0.0068

(*): mMol FeSO₄/g dry weight of leaf extract. SD : standar deviasi,

Tabel Lampiran 6. Data Nilai FRAP

Jenis Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Nilai FRAP (*) 1	Nilai FRAP (*) 2	Rata-rata	SD ($\mu\text{g/mL}$)
Daun Muda	200	0.400	1.956	1.2	1.1003
	300	24.178	24.844	24.5	0.4709
	400	70.400	75.067	72.7	3.3001
	500	131.733	135.067	133.4	2.3575
Daun Dewasa	200	3.511	3.956	3.7	0.3147
	300	53.511	55.733	54.6	1.5712
	400	104.622	109.733	107.2	3.6140
	500	159.289	163.511	161.4	2.9854

(*): mMol FeSO₄/g dry weight of leaf extract. SD : standar deviasi,

Lampiran 4. Analisis Data Statistik

Tabel Lampiran 7. Uji Normalitas Metode FRAP

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil frap	.156	16	.200*	.909	16	.113

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel Lampiran 8. Uji T-Test Metode FRAP

Group Statistics

	jenis daun	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
hasil frap	daun muda	8	57.9625	54.14359	19.14265
	daun dewasa	8	81.7250	62.84354	22.21855

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
hasil frap	.316	.583	-.810	14	.431	-23.76250	29.32754	- 86.66383	39.13883
			-.810	13.700	.432	-23.76250	29.32754	- 86.79318	39.26818

Lampiran 5. Foto-foto Penelitian



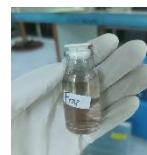
Larutan
TPTZ 10
mmol/l



FeSO₄



Larutan
FeCl₃ 20
mmol/l



Reagen
FRAP



Pengenceran
ekstrak daun
dewasa



Pengenceran
ekstrak daun
muda



Indikator
pH
(buffer)



Pengukur
an buffer
dengan
pH meter



Larutan
vitamin C
(DPPH)



Daun Dewasa
(DPPH)



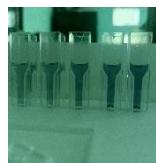
Daun
muda
(DPPH)



Larutan
vitamin C
(FRAP)



Daun muda
(FRAP)



Daun dewasa
(FRAP)



Larutan
standar
FeSO₄



Ekstrak
daun keji

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Zhusna Nisha Maulida
2. TTL : Semarang, 1 juni 2001
3. Alamat : Pagersalam RT 02 RW 02, Gunungpati,
Semarang
4. No. HP : 085702637829
5. E-mail : zhusna.maulida66@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal

- a. TK Aisyiyah Bustanul Athfal 52 Semarang
- b. MI Al-Islam Gunungpati
- c. SMP Negeri 3 Ungaran
- d. SMA Negeri 12 Semarang

C. Karya ilmiah

“Identification Of Potential Soil Degrading Microbials Contaminated With Insecticides. *Biolink* (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan), 9(1), 15–25.
[Https://Doi.Org/10.31289/Biolink.V9i1.6364](https://doi.org/10.31289/Biolink.V9i1.6364)”

Semarang, 15 September 2023



Zhusna Nisha Maulida

NIM : 1908016021

