

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan diambil kesimpulan sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanolik daun pulutan, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air ekstrak etanolik daun pulutan memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH.

Kedua, potensi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai  $IC_{50}$  yaitu sebesar ekstrak etanolik 52,380  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi etil asetat 21,622  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi *n*-heksan 59,466  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi air 46,270  $\mu\text{g/ml}$  dan rutin yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini memiliki  $IC_{50}$  sebesar 5,796  $\mu\text{g/ml}$ .

Ketiga, fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi etil asetat yaitu sebesar 21,622  $\mu\text{g/ml}$  .

Keempat, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanolik.

#### **B. Saran**

Pertama, perlunya penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi, memurnikan dan melakukan identifikasi senyawa yang aktif sebagai antioksidan dalam tanaman. Kedua perlu dilakukan penelitian antioksidan daun pulutan dengan menggunakan metode selain DPPH untuk mengetahui seberapa besar potensi

antioksidan terhadap jenis radikal yang lain. Ketiga, perlu dilakukan penelitian antioksidan terhadap subfraksi untuk mengetahui manakah yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andriyanto A.D. 2008. *Aktivitas Antioksidan Fraksi Eter dan Etil Asetat Ekstrak Metanolik Daun Asam (Tamarindus indica L.) Terhadap Radikal DPPH* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Anonim. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Anonim. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid 1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 2008. *Antioksidan*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>
- Anonim. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (quercetin)*. Makasar: FMIPA, Universitas Hasanudin.
- Anonim.2012. *saponin*,<http://farmacyku.blogspot.com/2012/02/saponin.html>.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia
- Atmaja N.D.2007. *Aktivitas Antioksidan Fraksi Eter dan Air Metanolik Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Terhadap Radikal Bebas 1,1diphenyl-2-pikrihidrazil* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Balittro. 2008. *Teknologi penyiapan simplisia terstandart tanaman obat*. <http://balittro.litbang.deptan.go.id/indeks.php>
- Caroline. 2005. Jurnal obat bahan alam. *Uji Antioksidan Antiradikal Bebas dan Penentuan EC50 dari Daun Cincau (cycla barbata miers)*. volume ke-4.
- Draga, A., Dusanka, D.A., Dragon, b., and Nenad, T. 2003. *Structure-Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoid*. Croatica Chemica ACTACCACAA. Vol 76,hlm 55-61
- Fessenden and Fessenden. 1982. *Kimia Organik*.. Edisi III. Erlangga.

- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Hernani dan Rahardjo. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kurniawan A. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Potensi Hayati Dari Kombinasi Ekstrak Empat Jenis Tanaman Obat di Indonesia*. Bogor: [skripsi] Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institute Pertanian Bogor.
- Liberty. 2012. *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.)* [jurnal]. Manado: FMIPA Universitas Sam Ratulangi.
- Markham K.M.1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Pokorny. J., Yanishlieva. N.,Gordon, M., 2001. *Antioxydant In Food: Pratical Application*. Cambridge: Wood publishing Limited.
- Probosari R. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Saponin dari Daun Mahkota Dewa ( Phaleria macrocarpa(Scheff.)Boerl)* [jurnal]. <http://repository.uui.ac.id/610/SK/I/0/00/001/001767/>.
- Purwanto A. 2010. *Optimasi Formula Gel Ekstrak Daun Teh Hijau (Camellia sinensis L.) Sebagai Antioksidan dengan Kombinasi Carbopol 940 dan Metal Selulosa Secara Metode Desain Factorial* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universita Setia Budi.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik tumbuhan tinggi*. Terjemahan oleh Padmawinata. Bandung: ITB.
- Sastroamidjojo S. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Setyawan A.R.P. 2011. *Krim Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.) Sebagai Antioksidan* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
- Sunarni T. 2005. *Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Daun Kepel (Stelechocarpus burahol (Bl.) Hook f. & Th.)*.
- Susilowati N. 2010. *Aktivitas Antioksidan Fraksi Fraksi Ekstrak Metanolik Daun Seligi (Phyllanthus buxifolius. Muell, arg) Terhadap Radikal Bebas DPPH* [skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Trease G and Evan S WC. 1978. *Pharmacognosy*. 11<sup>th</sup> Edition. London: Brailliere Tindal

Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Jakarta: Kanisius.

Windono, T., Budiono, R., Ivone., Valentina, S., Saputro, Y. 2004. *Studi Hubungan Struktur Aktivitas Kapasitas Peredaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid Terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)*. Artocarpus

LAMPPIRAN

## Lampiran 1. Hasil identifikasi/determinasi tanaman pulutan



No : 043/DET/UPT-LAB/14/III/2013  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Raya Kuntho Suganda  
NIM : 15092756 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Pulutan (*Urena lobata L.*)**

Determinasi berdasarkan Steenis: FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143a – 144a. 75. Familia Malvaceae. 1a – 2a. *Urena lobata L.*

Deskripsi

Habitus : Perdu kecil, tegak, bercabang banyak, tinggi dapat mencapai 2 meter.  
Batang : Berkayu, bulat, batang dan tangkai liat sehingga sukar dipatahkan, seluruh tanaman ditumbuhi rambut halus, berwarna ungu.  
Daun : Tunggal, berseling, bentuk menjari, ujung runcing, pangkal membulat, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda.  
Bunga : Tunggal, di ketiak daun, berwarna merah/pink, mahkota bulat telur terbalik, panjang kira-kira 1 cm. Daun kelopak tambahan 5, bentuk lanset, bagian pangkal bersatu. Tabung benangsari bengkok, hanya pada ujung ada kepalasari. Bakal buah beruang 5. Tangkai putik 10, pangkalnya bersatu.  
Akar : Tunggang, berwarna coklat.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 14 Maret 2013  
Tim determinasi  
  
Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

**Lampiran 2. Foto alat dan bahan**



Tanaman pulutan



Serbuk pulutan



Hasil fraksinasi



### Lampiran 3. Perhitungan rendemen dan susut pengeringan daun pulutan

#### 1. Rendemen daun pulutan

Serbuk daun pulutan diperoleh dari daun pulutan dengan bobot basah 4000 gram, setelah dikeringkan mempunyai bobot 510 gram, rendemen yang didapatkan sebesar :

Prosentase rendemen daun pulutan

$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{510}{4000} \times 100\%$$

$$= 12,75 \%$$

**Lampiran 4. Perhitungan prosentase rendemen ekstrak etanolik dan prosentase rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan air ekstrak etanolik daun pulutan**

**1. Randemen ekstrak etanolik**

Bobot serbuk daun = 400 g

Ekstrak yang dihasilkan = 39,544 g

$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{39,544}{400} \times 100\% \\ &= 9,88\% \end{aligned}$$

**2. Randemen fraksi n-heksan, etil asetat dan air**

Berat Ekstrak kental (g)	Fraksi	Berat fraksi kental (g)	Randemen fraksi (%)
20,000	n-heksan	4,92	24,60
	Etil asetat	3,26	16,30
	Air	9,55	47,75

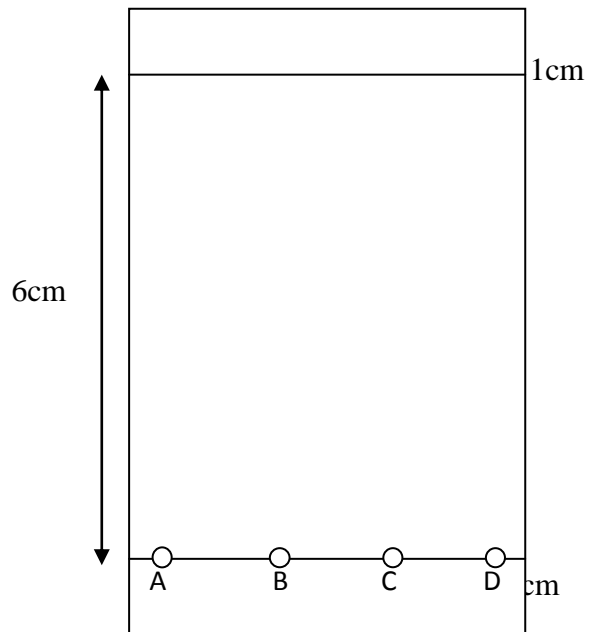
$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100$$

$$\% \text{ Randemen fraksi n-heksan} = \frac{4,92}{20,00} \times 100\% = 24,60 \%$$

$$\% \text{ Randemen fraksi etil asetat} = \frac{3,26}{20,00} \times 100\% = 16,30 \%$$

$$\% \text{ Randemen fraksi air} = \frac{9,55}{20,00} \times 100\% = 47,75 \%$$

### Lampiran 5. Foto hasil KLT



**Ket :**

- A : ekstrak etanolik
- B : fraksi *n*-heksan
- C : fraksi etil asetat
- D : fraksi air

#### 1. Identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan fase diam selulosa dan fase gerak butanol:asam asetat: air (4:1:5). Larutan penyemprot yang digunakan adalah larutan sitroborat.



Sitroborat



UV 254



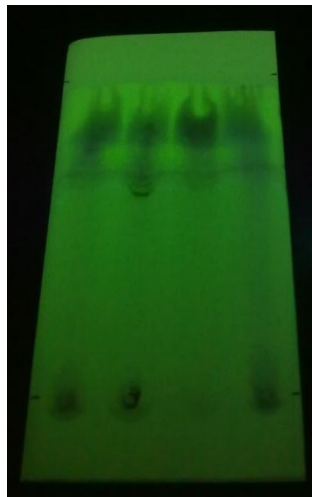
UV 366

## 2. Identifikasi saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol:air (4:1:5). Larutan penyemprot yang digunakan adalah anisaldehyd.



Anisaldehyd



UV 254



UV 366

## 3. Identifikasi tannin

Identifikasi tannin dilakukan dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak butanol:asam asetat:air (4:1:5). Larutan penyemprot yang digunakan adalah FeCl<sub>3</sub>.

FeCl<sub>3</sub>

UV 254



UV 366

## Lampiran 6. Perhitungan Rf dan hRf

### - Flavonoid

Ekstrak etanolik

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,5}{6} = 0,75$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \quad , \\ &= 0,75 \times 100 \\ &= 75\% \end{aligned}$$

Fraksi *n*-heksan

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,4}{6} = 0,73$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \quad , \\ &= 0,73 \times 100 \\ &= 73\% \end{aligned}$$

Fraksi etil asetat

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4}{6} = 0,66$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,66 \times 100 \\ &= 66\% \end{aligned}$$

Fraksi air

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,9}{6} = 0,81$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,81 \times 100 \\ &= 81\% \end{aligned}$$

- **Saponin**

Ekstrak etanolik

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,3}{6} = 0,71$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,71 \times 100 \\ &= 71\% \end{aligned}$$

Fraksi *n*-heksan

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,6}{6} = 0,76$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,76 \times 100 \\ &= 76\% \end{aligned}$$

Fraksi etil asetat

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,4}{6} = 0,73$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,73 \times 100 \\ &= 73\% \end{aligned}$$

Fraksi air

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,5}{6} = 0,75$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,75 \times 100 \\ &= 75\% \end{aligned}$$

- **Tanin**

Ekstrak etanolik

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,8}{6} = 0,80$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,80 \times 100 \\ &= 80\% \end{aligned}$$

Fraksi *n*-heksan

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,2}{6} = 0,70$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \quad , \\ &= 0,7 \times 100 \\ &= 70\% \end{aligned}$$

Ekstrak etil asetat

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,3}{6} = 0,71$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \\ &= 0,71 \times 100 \\ &= 71\% \end{aligned}$$

Fraksi air

$$Rf(x_1) = \frac{x}{y} = \frac{4,6}{6} = 0,76 \quad ,$$

$$\begin{aligned} hRf(x_1) &= Rf \times 100 \quad , \\ &= 0,76 \times 100 \\ &= 76\% \end{aligned}$$

**Lampiran 7. Perhitungan pembuatan larutan DPPH 0,45 mM sebanyak 100 ml dan pengukuran absorbansi untuk penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,45 mM**

**1. Penimbangan DPPH**

Serbuk DPPH untuk uji aktivitas antioksidan ditimbang sesuai hasil perhitungan berikut:

$$\begin{aligned} \text{Berat serbuk DPPH} &= \text{BM DPPH} \times \text{Volume larutan} \times \text{Molaritas DPPH} \\ &= 394,32 \text{ gram} \times 0,100 \text{ liter} \times 0,00045 \text{ M} \\ &= 0,01774444 \text{ gram} \end{aligned}$$

selanjutnya dilarutkan dalam 100 ml metanol p.a di labu takar 100 ml.

**2. Penentuan panjang gelombang**

<b>Panjang gelombang</b>	<b>Absorbansi DPPH</b>	<b>Panjang gelombang</b>	<b>Absorbansi DPPH</b>
<b>490</b>	0,677	511	0,821
<b>495</b>	0,720	512	0,824
<b>500</b>	0,758	513	0,827
<b>501</b>	0,765	514	0,830
<b>502</b>	0,771	515	0,832
<b>503</b>	0,778	516	0,833
<b>504</b>	0,785	517	0,834
<b>505</b>	0,792	518	0,832
<b>506</b>	0,797	519	0,831
<b>507</b>	0,803	520	0,829
<b>508</b>	0,808	521	0,826
<b>509</b>	0,812	522	0,823
<b>510</b>	0,817	523	0,819



### 3. *Data operating time*

Menit ke	Absorbansi (A)	
	Ekstrak	Rutin
0	0,234	0,263
5	0,238	0,268
10	0,242	0,275
15	0,247	0,284
20	0,252	<b>0,293</b>
25	<b>0,257</b>	<b>0,293</b>
30	<b>0,257</b>	<b>0,293</b>
35	<b>0,257</b>	<b>0,293</b>
40	<b>0,257</b>	<b>0,293</b>
45	<b>0,257</b>	0,292
50	0,253	0,290
55	0,249	
60	0,246	

Penentuan *operating time* dilakukan terhadap ekstrak etanol daun pulutan dan rutin dengan cara membuat larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok ekstrak daun pulutan dibuat dengan konsentrasi 500 µg/ml . Dengan cara menimbang 0,025 gram ekstrak kental secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah

metanol sampai tanda batas. Dari konsentrasi 500 µg/ml tersebut kemudian diencerkan menjadi 70 µg/ml untuk melakukan penentuan *operating time*.

Perhitungan pembuatan larutan stok 500 µg/ml :

$$500 \mu\text{g/ml} = 500/1 \times 10^6 = 5 \times 10^{-4}/\text{ml}$$

$$\text{Dalam } 50 \text{ ml} = 50 \times 5 \times 10^{-4}$$

$$= 0,025 \text{ g}$$

**Lampiran 8. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanolik daun pulutan**

Larutan yang dibuat			Larutan stok	
No	Konsentrasi µg/ml	Volume (ml)	Konsentrasi µg/ml	Volume yg diambil (ml)
1	70	25	500	3,5
2	60	25	500	3,0
3	50	25	500	2,5
4	40	25	500	2,0
5	30	25	500	1,5

Pembuatan larutan stok ekstrak etanolik daun pulutan dilakukan dengan ditimbang 0,025 gram ekstrak etanolik secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah metanol sampai tanda batas. Dari larutan stok diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

Contoh perhitungan pengenceran:

**Konsentrasi 70 µg/ml**

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$V1 = \frac{V2 \times C2}{C1} = \frac{25 \times 70}{500} = 3,5 \text{ ml}$$

Larutan uji dengan konsentrasi 70 µg/ml dibuat dengan memipet 3,5 ml, lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.

### Lampiran 9. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> ekstrak etanolik

Perhitungan prosentase peredaman menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

#### Replikasi 1

C (µg/ml)	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
30	0,656	21,34	1,477	4,19
40	0,542	35,01	1,602	4,61
50	0,457	45,20	1,699	4,87
60	0,363	56,47	1,778	5,15
70	0,262	68,58	1,845	5,50

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 30 µg/ml

$$\begin{aligned} \% \text{ peredaman} &= \frac{0,834 - 0,656}{0,834} \times 100\% \\ &= 21,34 \% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = -0,8979$$

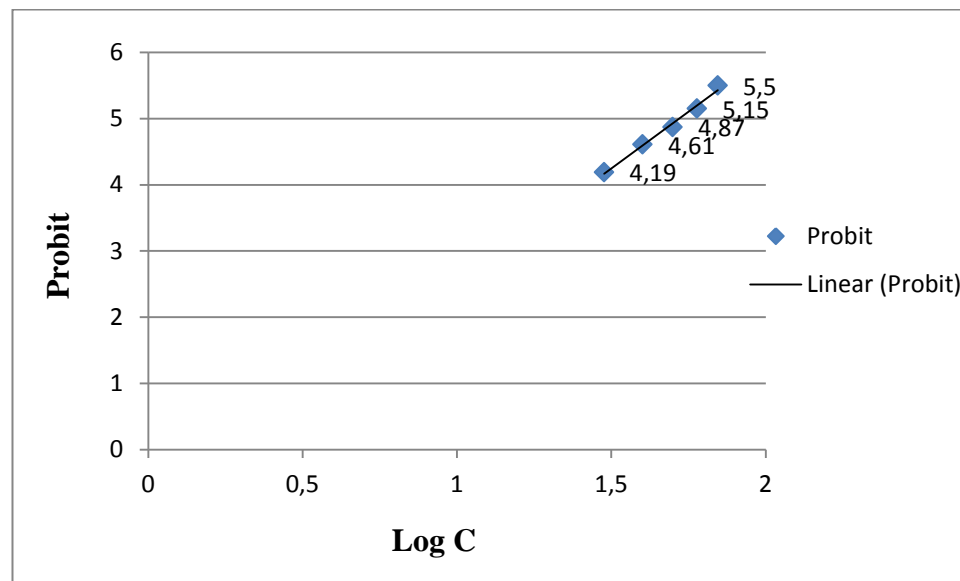
$$b = 3,4293$$

$$r = 0,9942$$

$$y = -0,8979 + 3,4293x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = -0,8979 + 3,4293x = 1,7199$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,7199 = 52,4687 \text{ µg/ml}$$



### Replikasi 2

C (µg/ml)	absorbansi	% peredaman	logC	Probit
30	0,657	21,22	1,477	4,19
40	0,543	34,89	1,602	4,61
50	0,456	45,32	1,699	4,87
60	0,364	56,59	1,778	5,18
70	0,260	68,82	1,845	5,50

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 30 µg/ml

$$\begin{aligned} \text{\% peredaman} &= \frac{0,834 - 0,657}{0,834} \times 100\% \\ &= 21,22\% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 0,9502$$

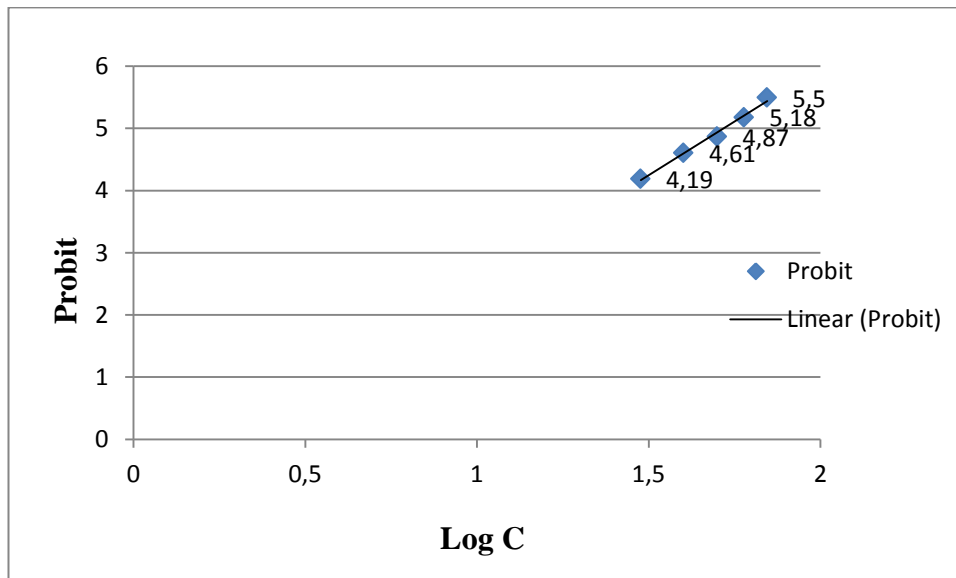
$$b = 3,4640$$

$$r = 0,9955$$

$$y = 0,9502 + 3,4640x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 0,9502 + 3,4640x = 1,7177$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,7177 = 52,2035 \mu\text{g/ml}$$



### Replikasi 3

C (μg/ml)	absorbansi	% peredaman	logC	Probit
30	0,657	21,22	1,477	4,19
40	0,541	35,13	1,602	4,61
50	0,458	45,08	1,699	4,87
60	0,364	56,35	1,778	5,15
70	0,262	68,58	1,845	5,50

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 30 μg/ml**

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,834 - 0,657}{0,834} \times 100\%$$

$$= 21,22 \%$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = -0,8979$$

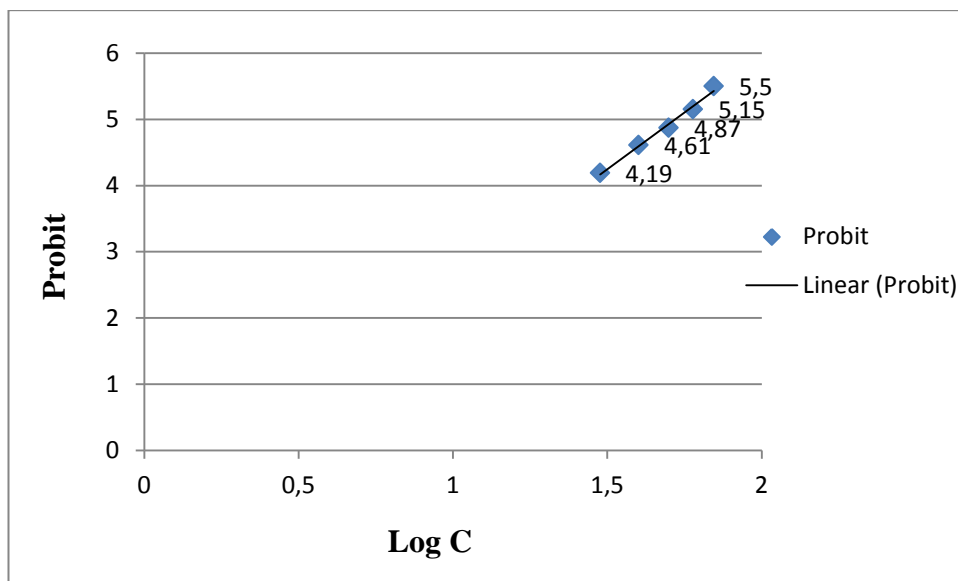
$$b = 3,4293$$

$$r = 0,9942$$

$$y = -0,8979 + 3,4293x$$

$$50\% \text{ perdaman} = 5 \longrightarrow 5 = -0,8979 + 3,4293x = 1,7199$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,7199 = 52,4687 \mu\text{g/ml}$$



**Lampiran 10. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi n-heksan ekstrak etanolik daun pulutan**

Larutan yang dibuat			Larutan stok	
No	Konsentrasi µg/ml	Volume (ml)	Konsentrasi µg/ml	Volume yg diambil (ml)
1	20	25	500	1,0
2	40	25	500	2,0
3	60	25	500	3,0
4	80	25	500	4,0
5	100	25	500	5,0

Pembuatan larutan stok ekstrak etanolik daun pulutan dilakukan dengan ditimbang 0,025 gram fraksi *n*-heksan secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah metanol sampai tanda batas. Dari larutan stok diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

Contoh perhitungan pengenceran:

**Konsentrasi 20 µg/ml**

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1 = \frac{V2 \times C2}{C1} = \frac{25 \times 20}{500} = 1 \text{ ml}$$

Larutan uji dengan konsentrasi 20 µg/ml dibuat dengan memipet 1 ml larutan stok lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.

Larutan uji dengan konsentrasi 100 µg/ml dibuat dengan memipet 5 ml larutan stok lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.



### Lampiran 11. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> fraksi n-heksan

Perhitungan prosentase peredaman menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

#### Replikasi 1

C (µg/ml )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
20	0,715	14,26	1,301	3,92
40	0,514	38,36	1,602	4,69
60	0,456	45,32	1,778	4,87
80	0,337	59,59	1,903	5,25
100	0,223	73,26	2	5,61

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 20 µg/ml

$$\begin{aligned} \% \text{ peredaman} &= \frac{0,834 - 0,715}{0,834} \times 100\% \\ &= 14,26 \% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 0,9463$$

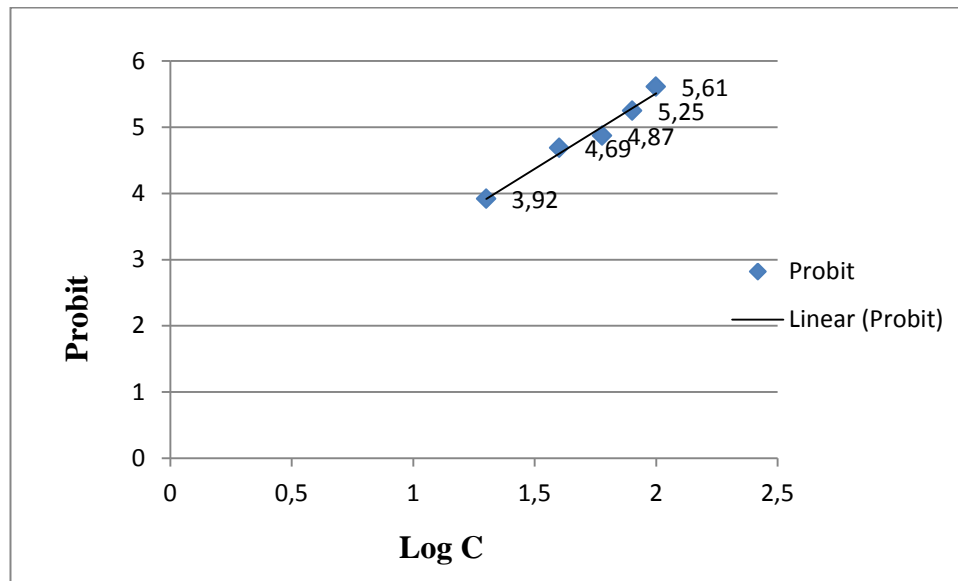
$$b = 2,2843$$

$$r = 0,9886$$

$$y = 0,9463 + 2,2843x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 0,9463 + 2,2843x = 1,7756$$

$$\text{IC}_{50} = \text{anti log } 1,7756 = 59,648 \text{ µg/ml}$$



### Replikasi 2

C (µg/ml )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
20	0,714	14,38	1,301	3,92
40	0,513	38,48	1,602	4,69
60	0,455	45,44	1,778	4,87
80	0,338	59,47	1,903	5,23
100	0,221	73,50	2	5,64

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 20 µg/ml**

$$\begin{aligned} \% \text{ peredaman} &= \frac{0,834 - 0,714}{0,834} \times 100\% \\ &= 14,38 \% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 0,9214$$

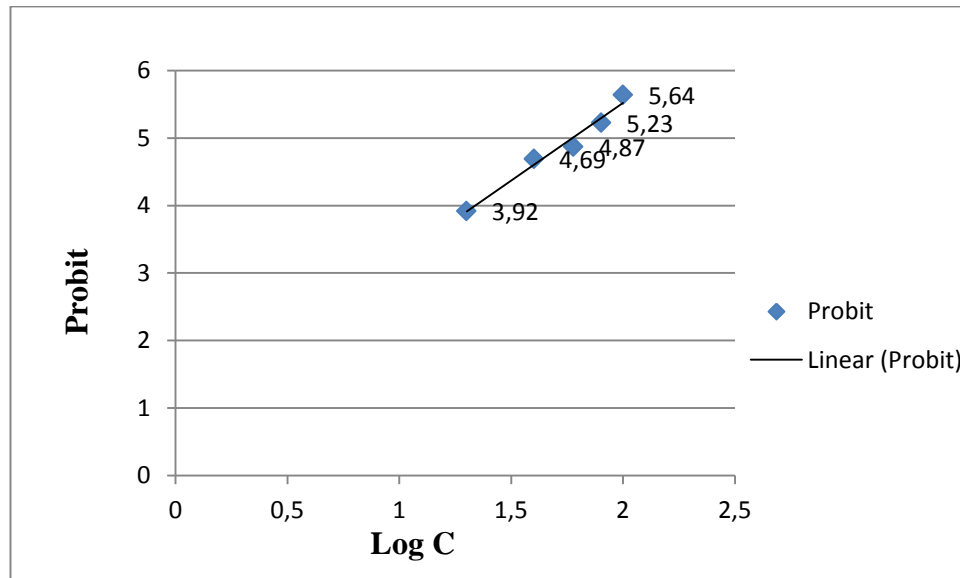
$$b = 2,2999$$

$$r = 0,9861$$

$$y = 0,9214 + 2,2999x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 0,9214 + 2,2999x = 1,7734$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,7734 = 59,3472 \mu\text{g/ml}$$



### Replikasi 3

C ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
20	0,716	14,14	1,301	3,92
40	0,513	38,48	1,602	4,69
60	0,454	45,56	1,778	4,90
80	0,338	59,47	1,903	5,23
100	0,221	73,50	2	5,64

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,834 - 0,716}{0,834} \times 100\%$$

$$= 14,14 \%$$

Type equation here.

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 0,9589$$

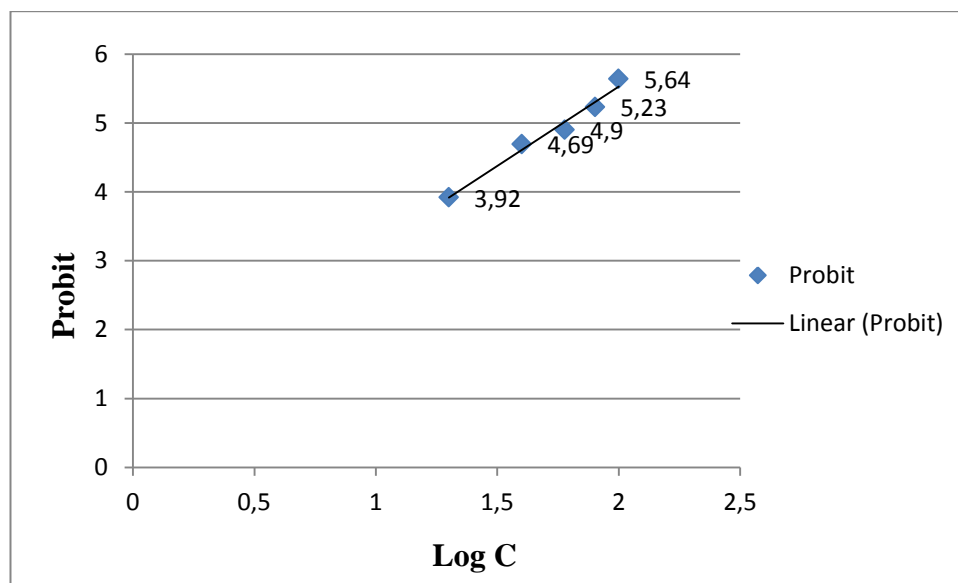
$$b = 2,2781$$

$$r = 0,9901$$

$$y = 0,9589 + 2,2781x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 0,9589 + 2,2781x = 1,7738$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,7738 = 59,401 \mu\text{g/ml}$$



### Lampiran 12. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi etil asetat

Larutan yang dibuat			Larutan stok	
No	Konsentrasi µg/ml	Volume (ml)	Konsentrasi µg/ml	Volume yg diambil (ml)
1	5	25	500	0,25
2	10	25	500	0,5
3	20	25	500	1,0
4	30	25	500	1,5
5	40	25	500	2,0

Pembuatan larutan stok 500 µg/ml dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun pulutan dilakukan dengan menimbang 0,025 gram fraksi etil asetat secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah methanol p.a sampai tanda batas. Selanjutnya, dari larutan stok diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

Contoh Perhitungan pengenceran:

#### Konsentrasi 5 µg/ml

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1 = \frac{V2 \times C2}{C1} = \frac{25 \times 5}{500} = 0,25 \text{ ml}$$

Larutan uji dengan konsentrasi 4 µg/ml dibuat dengan memipet 0,25 ml, lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.

**Lampiran 13. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> larutan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun pulutan.**

Perhitungan prosentase peredaman menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

**Replikasi 1**

C (µg/ml)	absorbansi	% peredaman	logC	Probit
5	0,758	8,89	0,699	3,66
10	0,715	14,06	1	3,92
20	0,404	51,44	1,301	5,03
30	0,319	61,65	1,477	5,31
40	0,208	75	1,602	5,67

- Contoh perhitungan % peredaman:

-

**Konsentrasi 5 µg/ml**

$$\begin{aligned} \% \text{ peredaman} &= \frac{0,832 - 0,758}{0,832} \times 100\% \\ &= 8,89\% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 1,8543$$

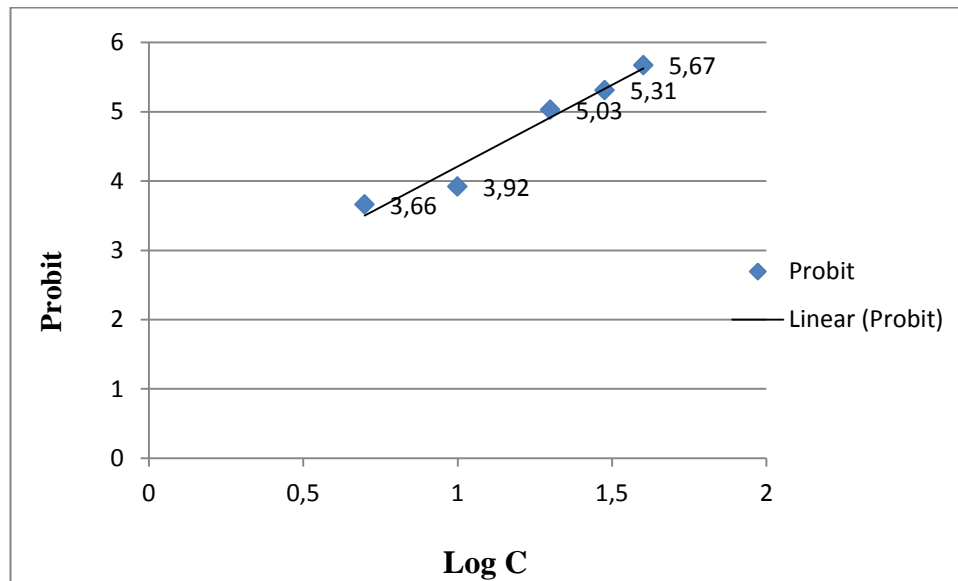
$$b = 2,3554$$

$$r = 0,9798$$

$$y = 1,8543 + 2,3554x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,8543 + 2,3554x = 1,3355$$

$$\text{IC}_{50} = \text{anti log } 1,3355 = 21,652 \text{ µg/ml}$$



### Replikasi 2

C (µg/ml )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
5	0,759	8,77	0,699	3,66
10	0,716	13,94	1	3,92
20	0,404	51,44	1.301	5,03
30	0,318	61,77	1,477	5,31
40	0,207	75,12	1,602	5,67

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 5 µg/ml

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,832 - 0,759}{0,832} \times 100\%$$

$$= 8,89 \%$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 1,8543$$

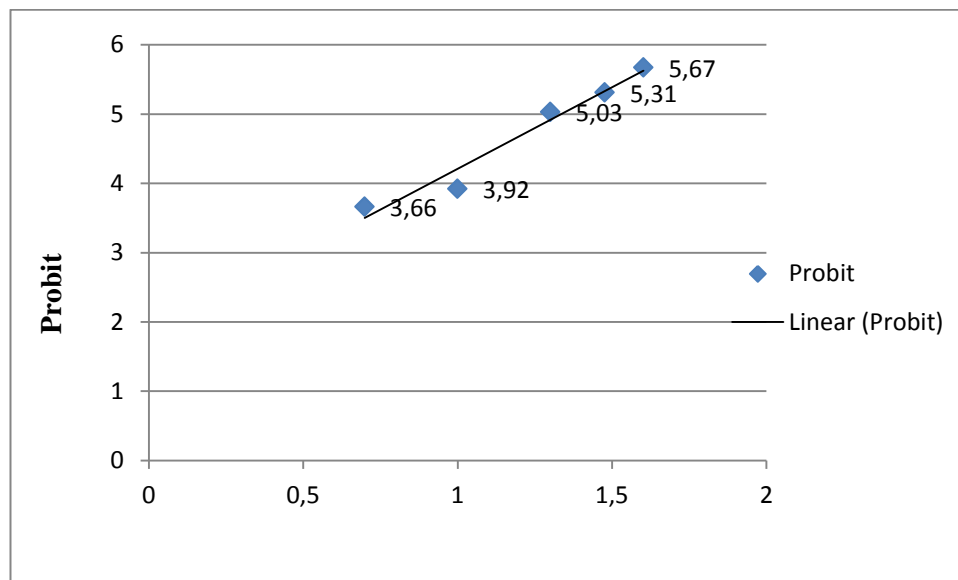
$$b = 2,3554$$

$$r = 0,9798$$

$$y = 1,8543 + 2,3554 x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,8543 + 2,3554x = 1,3355$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,3355 = 21,652 \mu\text{g/ml}$$



### Replikasi 3

C ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
5	0,760	8,65	0,699	3,66
10	0,716	13,94	1	3,92
20	0,403	51,56	1,301	5,05
30	0,318	61,77	1,477	5,31
40	0,206	75,24	1,602	5,67

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 5  $\mu\text{g/ml}$**

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,832 - 0,760}{0,832} \times 100\%$$

$$= 8,65 \%$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):



$$a = 1,8545$$

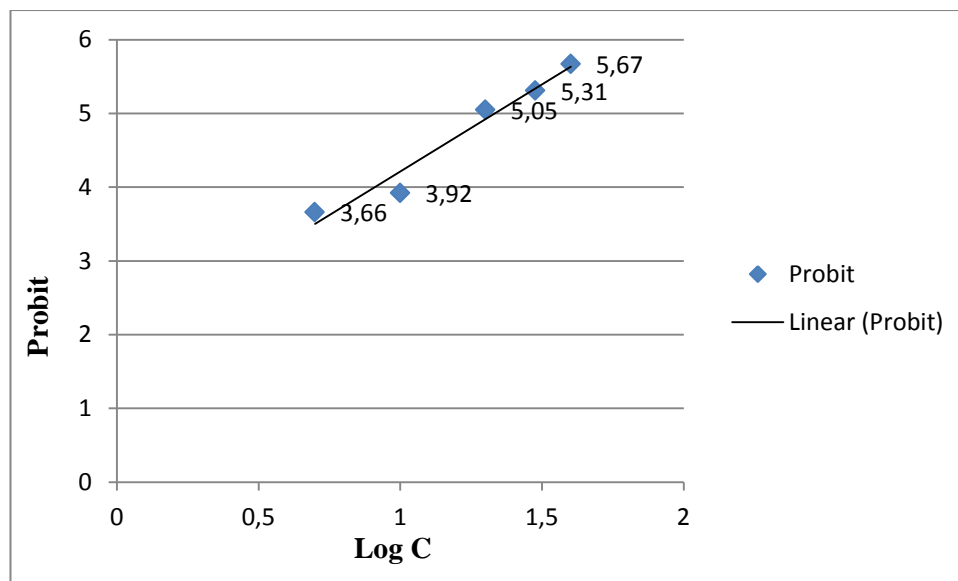
$$b = 2,3585$$

$$r = 0,9791$$

$$y = 1,8545 + 2,3585 x$$

$$50\% \text{ perdaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,8545 + 2,3585x = 1,3337$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,3337 = 21,562 \mu\text{g/ml}$$



#### Lampiran 14. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi air

Larutan yang dibuat			Larutan stok	
No	Konsentrasi µg/ml	Volume (ml)	Konsentrasi µg/ml	Volume yg diambil (ml)
1	10	25	500	0,5
2	20	25	500	1,0
3	40	25	500	2,0
4	60	25	500	3,0
5	80	25	500	4,0

Pembuatan larutan stok 500 µg/ml dari fraksi air ekstrak etanol daun pulutan dilakukan dengan menimbang 0,025 gram fraksi air secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah methanol p.a sampai tanda batas. Selanjutnya, dari larutan stok diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

Contoh perhitungan pengenceran:

#### Konsentrasi 10 µg/ml

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1 = \frac{V2 \times C2}{C1} = \frac{25 \times 10}{500} = 0,5 \text{ ml}$$

Larutan uji dengan konsentrasi 10 µg/ml dibuat dengan memipet 0,5 ml, lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.

**Lampiran 15. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> larutan fraksi air ekstrak etanol daun pulutan.**

Perhitungan prosentase peredaman menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

**Replikasi 1**

C (µg/ml )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
10	0,749	9,97	1	3,72
20	0,690	17,06	1,301	4,05
40	0,537	35,45	1.602	4,61
60	0,313	62,37	1,778	5,31
80	0,208	75	1,903	5,67

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 10 µg/ml**

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,832 - 0,749}{0,832} \times 100\%$$

$$= 9,97 \%$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 1,3666$$

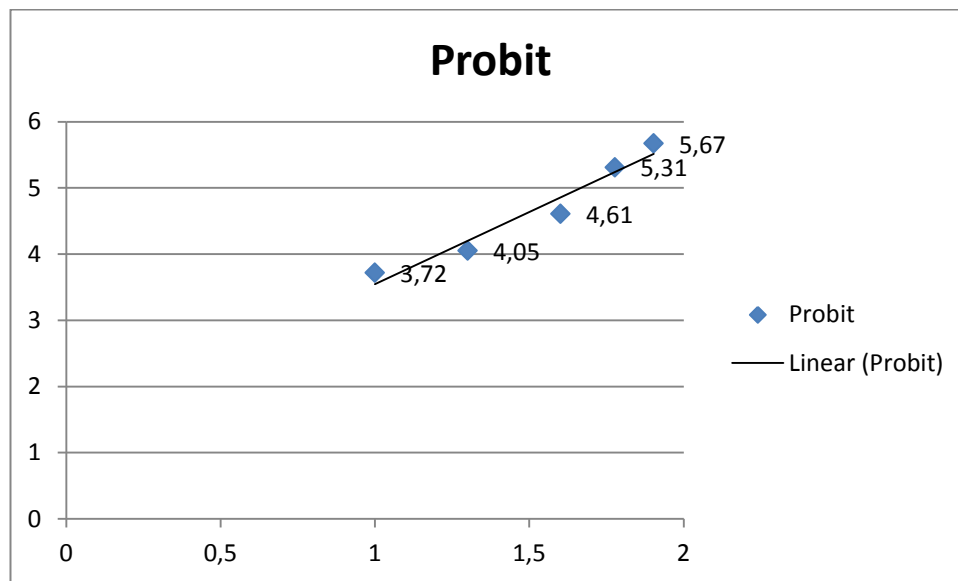
$$b = 2,1791$$

$$r = 0,9729$$

$$y = 1,3666 + 2,1791 x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,3666 + 2,1791 x = 1,6673$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,6673 = 46,483 \text{ µg/ml}$$



### Replikasi 2

C (µg/ml )	absorbansi	% peredaman	logC	Probit
10	0,748	10,09	1	3,72
20	0,689	17,18	1,301	4,05
40	0,535	35,69	1.602	4,64
60	0,314	62,25	1,778	5,31
80	0,206	75,29	1,903	5,67

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 10 µg/ml**

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,832 - 0,748}{0,832} \times 100\%$$

$$= 10,09 \%$$

$$= 75,09 \%$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 1,3654$$

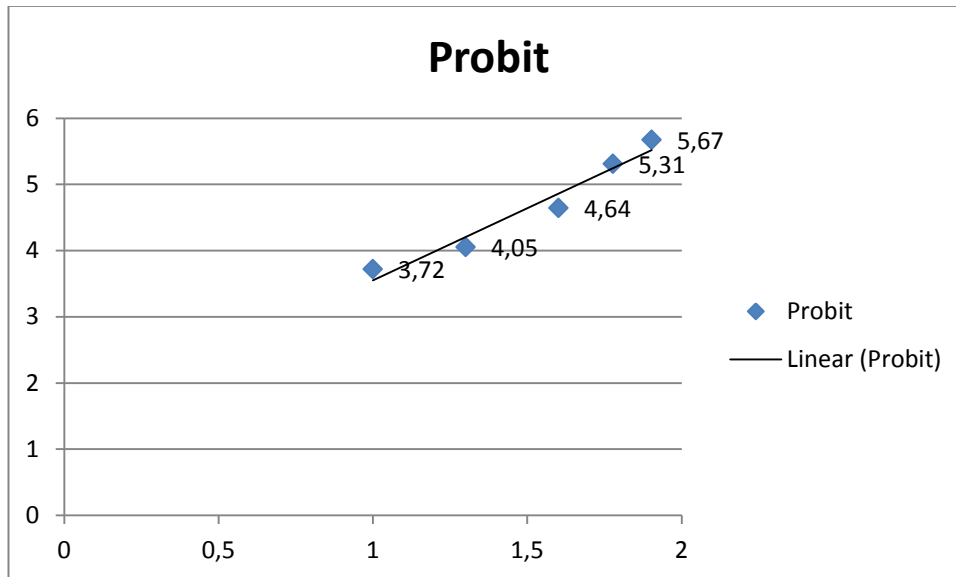
$$b = 2,1839$$

$$r = 0,9756$$

$$y = 1,3654 + 2,1839x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,3654 + 2,1839x = 1,6643$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,6643 = 46,164 \mu\text{g/ml}$$



### Replikasi 3

C ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi	% peredaman	logC	Probit
10	0,750	9,85	1	3,72
20	0,689	17,18	1,301	4,05
40	0,536	35,57	1,602	4,64
60	0,314	62,25	1,778	5,31
80	0,208	75	1,903	5,67

Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$**

$$\% \text{ peredaman} = \frac{0,832 - 0,750}{0,832} \times 100\%$$

$$= 9,85\%$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear  $y = a + bx$  (log C Versus Probit):

$$a = 1,3654$$

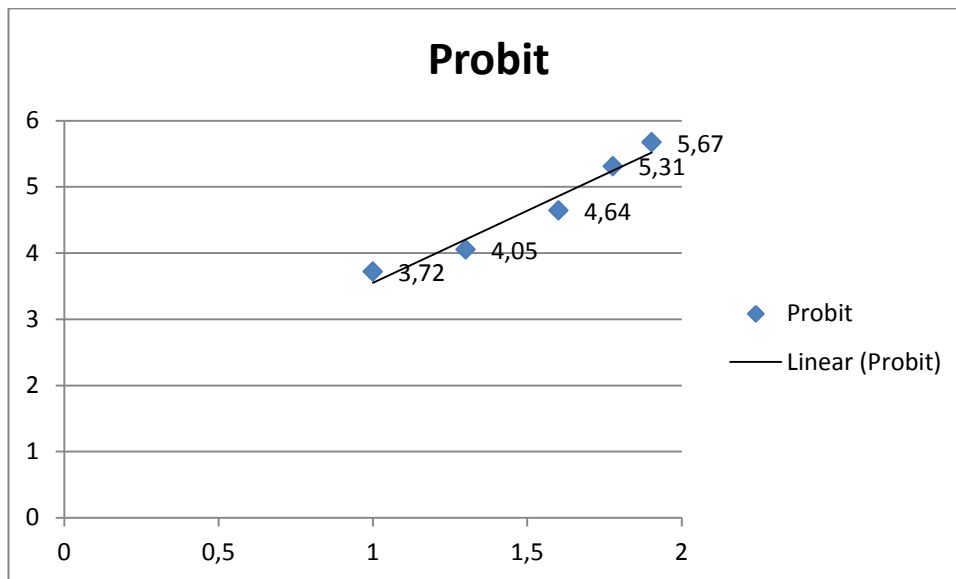
$$b = 2,1839$$

$$r = 0,9756$$

$$y = 1,3654 + 2,1839x$$

$$50\% \text{ perdaman} = 5 \longrightarrow 5 = 1,3654 + 2,1839x = 1,6643$$

$$IC_{50} = \text{anti log } 1,6643 = 46,164 \mu\text{g/ml}$$



**Lampiran 16. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi rutin (pembanding)**

Larutan yang dibuat			Larutan stok	
No	Konsentrasi µg/ml	Volume (ml)	Konsentrasi µg/ml	Volume yg diambil (ml)
1	2	25	500	0,1
2	4	25	500	0,2
3	6	25	500	0,3
4	8	25	500	0,4
5	10	25	500	0,5

Pembuatan larutan stok 500 µg/ml dari rutin (pembanding) dilakukan dengan menimbang 0,025 gram rutin secara seksama kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, selanjutnya ditambah metanol sampai tanda batas. Selanjutnya, dari larutan stok diencerkan menjadi beberapa konsentrasi.

Contoh perhitungan pengenceran:

**Konsentrasi 2 µg/ml**

$$V1.C1=V2.C2$$

$$V1 = \frac{V2 \times C2}{C1} = \frac{25 \times 2}{500} = 0,1 \text{ ml}$$

Larutan uji dengan konsentrasi 2 µg/ml dibuat dengan memipet 0,1 ml larutan stok rutin, lalu dimasukkan dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan metanol p.a. sampai tanda batas.

### Lampiran 17. Perhitungan aktivitas antioksidan dan IC<sub>50</sub> rutin

Perhitungan prosentase peredaman menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

#### Replikasi 1

C (µg/ml)	Abs sampel	% peredaman	Log C	Probit
2	0,673	19,40	0,301	4,12
4	0,514	38,44	0,602	4,69
6	0,424	49,22	0,778	4,97
8	0,303	63,17	0,903	5,36
10	0,283	66,10	1	5,41

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 2 µg/ml

$$\begin{aligned} \% \text{ Peredaman} &= \frac{0,835 - 0,673}{0,835} \times 100\% \\ &= 19,40 \% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan persamaan regresi linear = a + bx (log C Versus Probit):

$$a = 3,5389$$

$$b = 1,9127$$

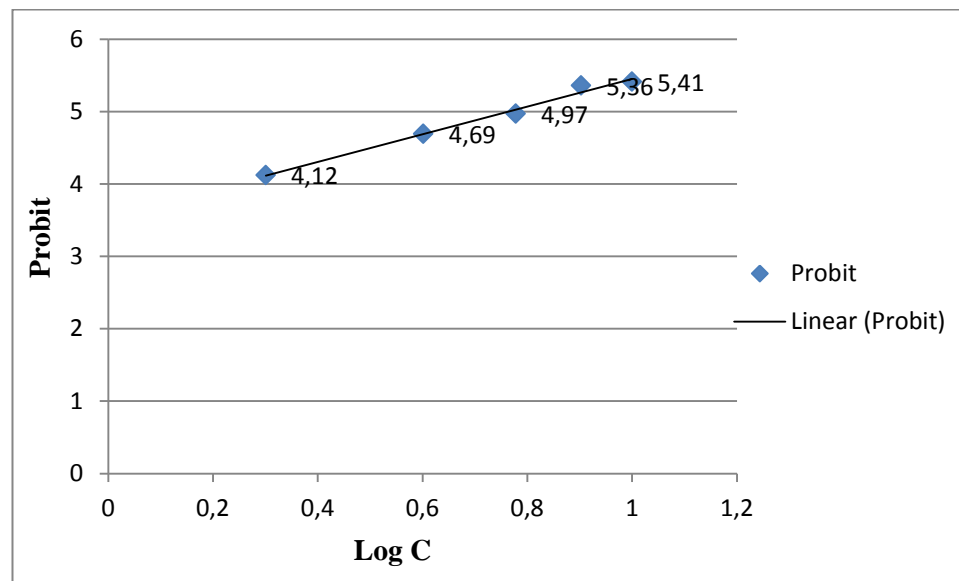
$$r = 0,9938$$

$$y = 3,5389 + 1,9127x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 3,5389 + 1,9127x = 0,7639$$

$$IC_{50} = \text{antilog } 0,7639 = 5,8063 \mu\text{g/ml}$$





### Replikasi 2

C (µg/ml)	Abs sampel	% peradaman	Log C	Probit
2	0,670	19,76	0,301	4,16
4	0,518	37,96	0,602	4,69
6	0,423	49,34	0,778	4,97
8	0,302	63,83	0,903	5,36
10	0,281	66,34	1	5,41

- Contoh perhitungan % peredaman:

#### Konsentrasi 2 µg/ml

$$\begin{aligned} \% \text{ Peredaman} &= \frac{0,835 - 0,670}{0,835} \times 100\% \\ &= 19,76\% \end{aligned}$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear = a + bx (log C Versus Probit):

$$a = 3,5860$$

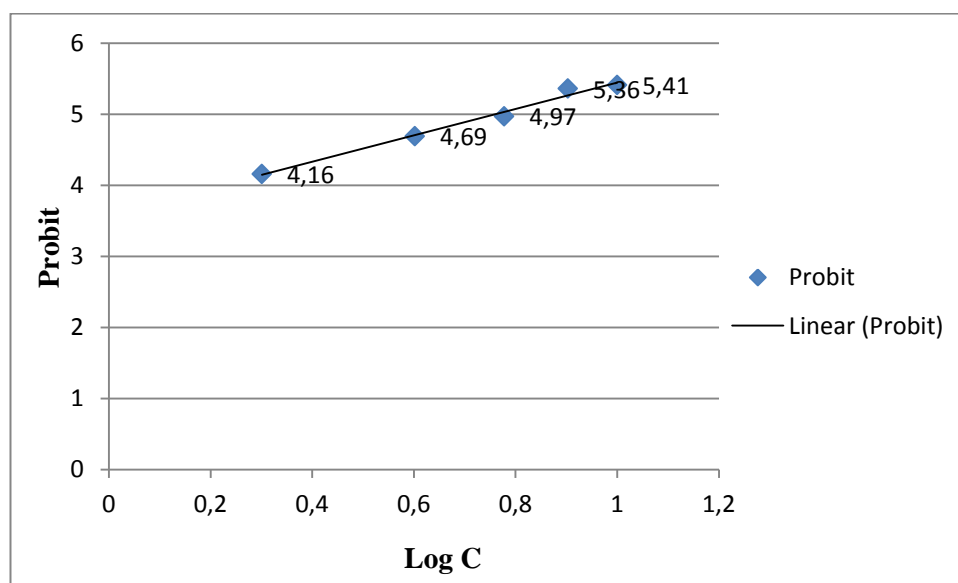
$$b = 1,8581$$

$$r = 0,9931$$

$$y = 3,5860 + 1,8581x$$

$$50\% \text{ peredaman} = 5 \longrightarrow 5 = 3,5860 + 1,8581x = 0,7609$$

$$IC_{50} = \text{antilog } 0,7609 = 5,7663 \mu\text{g/ml}$$



### Replikasi 3

C (μg/ml)	Abs sampel	% peredaman	Log C	Probit
2	0,672	19,52	0,301	4,16
4	0,515	38,32	0,602	4,69
6	0,425	49,10	0,778	4,97
8	0,305	63,47	0,903	5,33
10	0,285	65,86	1	5,41

- Contoh perhitungan % peredaman:

**Konsentrasi 2 μg/ml**

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{0,835 - 0,672}{0,835} \times 100\%$$

$$=19,52 \%$$

- Hasil perhitungan  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linear = a + bx (log C Versus Probit):

$$a = 3,5931$$

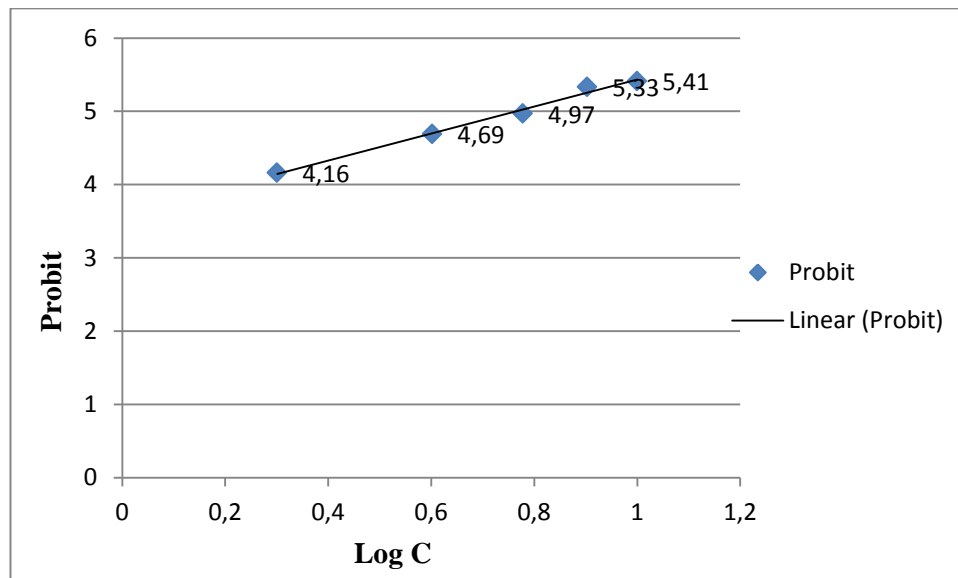
$$b = 1,8398$$

$$r = 0,9954$$

$$y=3,5931+1,8398x$$

$$50\% \text{ perdaman} = 5 \longrightarrow 5=3,5931+1,8398x=0,7647$$

$$IC_{50}=\text{antilog } 0,7647=5,7965\mu\text{g/ml}$$



**Lampiran 18. Tabel probit**

%	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,64	6,41	6,55	6,75	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,00	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09