



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA

FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffs-uhamka.ac.id; E-mail: ffs@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI NO. 304/F.03.08/2022

Bismillahirrohmanirrohiim,
Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, III/d / Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2021/2022** kepada:

N a m a	Dra. Fitriani, M.Si.
NID/NIDN	D.88.261/ 0027026401
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata/ III-C
Jabatan Fungsional	LEKTOR
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMERASE DALAM PENDETEKSIAN CEMARAN BABI PADA MARSHMALLOW CANDY

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 09 Maret 2022



Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEKS



**PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH
POLYMERASE DALAM PENDETEKSIAN CEMARAN BABI PADA
MARSHMALLOW CANDY**

Oleh;
Dra. Fitriani, M. Si. (0027026401)
Wahyu Hidayati, S. Si., M. Biomed. (0308108202)
Shylvanna Fhirda Octaviani (1804015271)
Shiva Deviana (18040150280)
Fania Dilla (2004015052)

Nomor Kontrak Penelitian:
Dana Penelitian: Rp 16.000.000,-

**FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
S1 FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA
JAKARTA
2022**



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : 702 / F.03.07 / 2021
Tanggal : 22 Desember 2021

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh Dua, bulan Desember, Tahun Dua Ribu Dua Puluh Satu, yang bertanda tangan di bawah ini **Dr. apt. Supandi M.Si**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai PIHAK PERTAMA; **Dra FITRIANI M.Si**, selanjutnya disebut sebagai PIHAK KEDUA.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMERASE DALAM Pendeteksian CEMARAN BABI PADA MARSHMALLOW CANDY** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Batch 1 Tahun 2021/2022 melalui simakip.uhamka.ac.id..

Pasal 2

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 22 Desember 2021 dan selesai pada tanggal 22 Juni 2022.

Pasal 3

- (1) Bukti progres luaran wajib dan tambahan sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1 dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan.
- (2) Luaran penelitian, dalam hal luaran publikasi ilmiah wajib mencantumkan ucapan terima kasih kepada pemberi dana penelitian Lemlitbang UHAMKA dengan menyertakan nomor kotak dan Batch 1 tahun 2021/2022.
- (3) Luaran penelitian yang dimaksud wajib PUBLISH, maksimal 1 tahun sejak tanggal SPK.

Pasal 4

Berdasarkan kemampuan keuangan lembaga, PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.15.000.000,- (Terbilang : Lima Belas Juta) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari RAB pada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Tahun Anggaran 2021/2022.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut;
(1) Termin 1 70 % : Sebesar 10.500.000 (Terbilang: Sepuluh Juta Lima Ratus Ribu Rupiah)
setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal penelitian yang telah direview dan diperbaiki

sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

(2) **Termin II 30 %** : Sebesar 4.500.000 (Terbilang: *Empat Juta Lima Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA mengunggah laporan akhir penelitian dengan melampirkan bukti luaran penelitian wajib dan tambahan sesuai Pasal 1 ke simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 6

- (1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.
- (2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1. Bila PIHAK KEDUA tidak mengikuti Monitoring dan Evaluasi sesuai dengan jadwal yang ditentukan, tidak bisa melanjutkan penyelesaian penelitian dan harus mengikuti proses Monitoring dan Evaluasi pada periode berikutnya.
- (3) PIHAK PERTAMA akan membekukan akun SIMAKIP PIHAK KEDUA jika luaran sesuai pasal 3 ayat (3) belum terpenuhi.
- (4) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.
- (5) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) dari keseluruhan dana yang diterima oleh PIHAK PERTAMA sebesar 5 % (lima persen).
- (6) PIHAK PERTAMA akan memberikan dana penelitian Termin II dalam pasal 5 ayat (2) maksimal 31 Juli 2022.

Jakarta, 22 Desember 2021

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Ketua,



Dr. apt. Supandi M.Si.

PIHAK KEDUA
Peneliti,



Dra FITRIANI M.Si



Dr. ZAHAR SARI M.Ag.

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA



LAPORAN PENELITIAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR. HAMKA Tahun 202X

Judul	:	PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMERASE DALAM PENDETEKSIAN CEMARAN BABI PADA MARSHMALLOW CANDY
Ketua Peneliti	:	Dra. Fitriani, M. Si.
Skema Hibah	:	Penelitian Pengembangan IPTEKS
Fakultas	:	Fakultas Farmasi dan Sains
Program Studi	:	S1 Farmasi
Luaran Wajib		

N o	Judul	Nama Jurnal/ Penerbit/Prosiding	Level SCIMAGO /SINTA	Progress Luaran
1	Pendeteksian Cemaran Babi pada Produk Olahan Gelatin Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)	Jurnal JST	SINTA 2	Submisi

Luaran Tambahan

N o	Judul	Nama Jurnal/ Penerbit/Prosidin g	Level SINTA/SCIMAG O	Progress Luaran
1			SINTA	Submisi

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Dr. apt. Rini Prastiwi, M. Si.
NIDN. 06280977801

Ketua Peneliti

Dra. Fitriani, M. Si.
NIDN. 0027026401

Menyetujui,
Dekan Fakultas Farmasi dan Sains

Dr. apt. Hadi Sudaryo, M. Si.
NIDN. 0325067201

Ketua Lemlitbang UHAMKA



Dr. apt. Supandi, M.Si
NIDN. 0319067801

LAPORAN AKHIR

Judul (Title)
PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMERASE DALAM PENDETEKSIAN CEMARAN BABI PADA MARSHMALLOW CANDY
Latar Belakang (Background)
Saat ini perkembangan teknologi pada produk pangan dan kesehatan telah berkembang pesat sehingga telah tersedia makanan dan obat-obatan dalam berbagai macam bentuk dan jenis. Bentuk dan warna memiliki daya tarik makanan untuk dapat dibeli oleh konsumen, sehingga banyak industri yang mencoba melakukan inovasi bentuk/tekstur produk dengan menambahkan gelatin (Schrieber & Gareis, 2007). Salah satu produk makanan yang dibuat dengan gelatin dan disukai konsumen dari berbagai kalangan adalah marshmallow candy.
Saat ini produk marshmallow mulai banyak ditemui di pusat perbelanjaan dan minimarket yang berada di berbagai kota di Indonesia. Marshmallow candy yang dijual memiliki warna dan bentuk yang menarik, khususnya bagi anak-anak, sehingga produk ini banyak diminati oleh konsumen. Marshmallow dikenal sebagai <i>whipped sugar</i> karena produk ini dibuat dengan mengaduk cairan gula hingga terbentuk busa (<i>foam</i>). Pada awalnya, marshmallow dibuat tanpa adanya pencampuran gelatin, akan tetapi bentuk <i>foam</i> yang diharapkan tidak dapat bertahan lama. Permasalahan tersebut kemudian dapat teratasi dengan memberikan gelatin saat proses produksi marshmallow (Schrieber & Gareis, 2007). Gelatin pada produk marshmallow berfungsi sebagai pembentuk <i>foam</i> , selain itu juga mempertahankan bentuk <i>foam</i> dan jel (Santoso et al., 2016).
Pada umumnya, gelatin yang digunakan dalam pembuatan marshmallow berasal dari binatang yang diperoleh dari tulang, kulit, dan jaringan ikat (Abdullah Sani et al., 2021). Oleh karena itu, muncul beberapa pertentangan terkait penggunaan gelatin yang lebih disebabkan oleh agama dan pola hidup. Masyarakat muslim dan yahudi tidak mengkonsumsi produk-produk yang berasal dari hewan babi, masyarakat Hindu tidak mengkonsumsi olahan sapi, kebudayaan masyarakat Roma melarang penggunaan kuda sebagai bahan pangan, dan orang-orang yang melakukan pola vegetarian tidak mengkonsumsi hewan (Hossein Elyasi; Ademola Monsur Hameed).

Berdasarkan hal tersebut maka sangat perlu dilakukan identifikasi sumber gelatin yang terdapat dalam produk marshmallow.

Berbagai teknik untuk mengetahui asal gelatin yang digunakan dalam produk makanan, diantaranya adalah *restriction fragment length polymorphism* (RFLP). Teknik RFLP sudah banyak dikembangkan untuk identifikasi jenis binatang yang digunakan sebagai sumber gelatin, baik pada produk obat maupun makanan (Erwanto et al., 2014; Girish et al., 2005a; Guan et al., 2018; Mane et al., 2014). Akan tetapi belum ada penelitian di Indonesia yang melaporkan asal gelatin yang digunakan pada produk marshmallow yang beredar di Indonesia, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui sumber gelatin yang digunakan pada produk marshmallow yang beredar di Indonesia.

Tujuan Riset (Objective)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui penggunaan metode RFLP mampu mendeteksi ada tidaknya cemaran babi pada produk olahan gelatin, dalam hal ini adalah marshmallow candy.

Metodologi (Method)

Preparasi sampel dan ekstraksi DNA Secara singkat tahapan ini akan dilakukan dengan mencacah sampel marshmallow dengan menggunakan pisau steril yang dilanjutkan dengan mengisolasi DNA sesuai dengan prosedur yang terdapat di dalam kit ekstraksi DNA.

Elektroforesis DNA

Tahapan ini dilakukan dengan membuat jel agarosa 1% yang memiliki sumuran yang kemudian diberikan sampel dan kontrol yang telah ditambahkan *loading dye*. Setelah semua sampel dimasukkan ke dalam sumuran, proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 V selama 15 menit.

RFLP

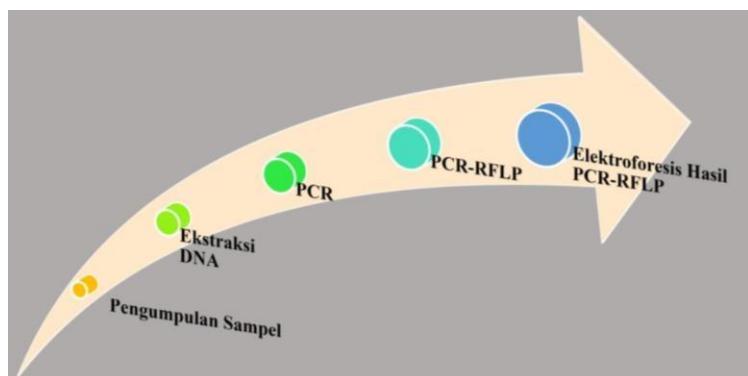
Teknik RFLP diawali dengan Amplifikasi DNA dan pemotongan dengan enzim restriksi. Proses Amplifikasi dengan teknik PCR dilakukan berdasarkan

protokol Go Taq® Green Master Mix dengan menambahkan primer spesifik terhadap DNA mitokondria. Hasil amplifikasi PCR sebanyak 10 µl kemudian diberikan penambahan enzim restriksi. Konfirmasi hasil RFLP menggunakan metode elektroforesis.

Analisa

Analisa dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan data yang terlihat pada gel elektroforesis.

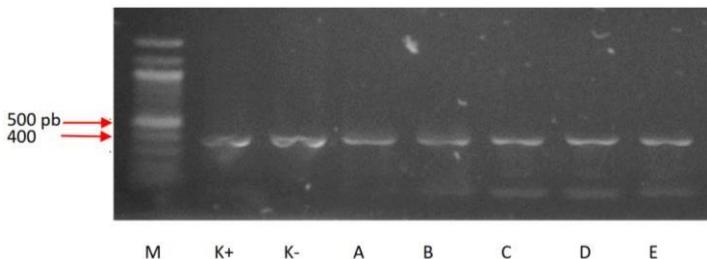
Diagram Alir Penelitian



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

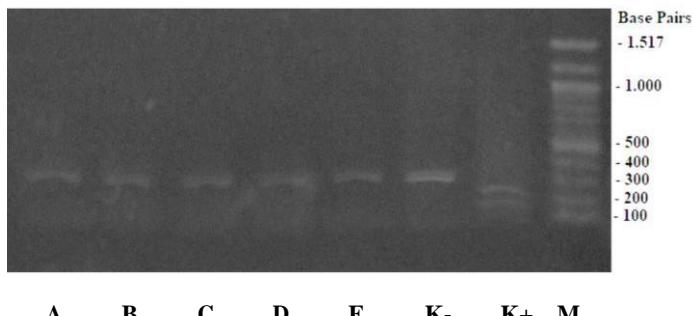
Hasil dan pembahasan

Pada penelitian ini, hasil PCR dari kelima sampel *marshmallow candy* dapat teramplifikasi dengan tepat pada fragmen sitokrom b dengan ukuran sebesar 359 bp (gambar 2). Hal ini juga serupa dengan hasil amplifikasi gen sitokrom b pada gelatin babi murni dan gelatin sapi murni.



Gambar 2. Hasil Elektroforesis Produk PCR. M: DNA *ladder* 1 kb, K+: Kontrol Positif (Gelatin Babi), K-: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), A-E : Marshmallow candy

Produk PCR digunakan untuk reaksi selanjutnya yaitu restriksi menggunakan enzim restriksi BsaJ 1. Hasil restriksi menunjukkan tidak adanya perbedaan pola pemotongan DNA pada keenam sampel dan gelatin sapi murni.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis RFLP. M: DNA *ladder* 1 kb, K+: Kontrol Positif (Gelatin Babi), K-: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), A-E : Marshmallow candy

Pada kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi terbentuk fragmen DNA dengan ukuran yang sama yaitu 359 bp. Terbentuknya ukuran fragmen DNA yang sama antara kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi dari hasil amplifikasi menggunakan primer cyt b disebabkan karena primer cyt b merupakan primer universal mamalia sehingga dapat mengamplifikasi DNA

yang memiliki kesamaan homologi dengan DNA babi seperti sapi (Kocher et al., 1989).

Dalam meningkatkan spesifitas keberadaan kandungan DNA babi pada sampel dan kontrol, maka produk PCR digunakan pada proses selanjutnya, yaitu metode RFLP. RFLP merupakan tindak lanjut dari hasil amplifikasi yang didigesti menggunakan enzim restriksi, perbedaan antara spesies hewan dapat dibedakan melalui digesti amplikon dengan enzim restriksi yang akan menghasilkan fragmen dari berbagai ukuran yang unik untuk setiap jenis hewan (Rasmussen, 2010).

Pada gambar 3 terlihat bahwa pola pemotongan DNA pada gelatin babi murni berbeda dengan sampel dan gelatin sapi murni. Pada gelatin babi murni yang berperan sebagai kontrol positif, produk PCR terpotong menjadi dua fragmen DNA dengan ukuran 228 bp dan 131 bp. Aida et al (2005) melaporkan bahwa pemotongan gen sitokrom b dengan enzim restriksi BsaJ 1 pada DNA babi menghasilkan dua fragmen DNA dengan ukuran 228 pb dan 131 pb. Berdasarkan hal tersebut, maka semua sampel yang digunakan pada penelitian ini tidak teridentifikasi adanya kontaminasi babi pada marshmallow yang digunakan pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Aida, A. A., Man, Y. B. C., Wong, C., Raha, A., & Son, R. (2005). MEAT Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sciene*, 69, 47–52. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.020>
- Al-Saidi, G. S., Al-Alawi, A., Rahman, M. S., & Guizani, N. (2012). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithrinus microdon*) skin: Effects of extraction conditions. *International Food Research Journal*, 19(3), 1167–1173.
- Bieliková, M., Pangallo, D., & Tur, J. Á. N. (2010). Polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) as a

- molecular discrimination tool for raw and heat-treated game and domestic animal meats, 49(3), 134–139.
- Cai, H., Gu, X., Scanlan, M. S., Ramatlapeng, D. H., & Lively, C. R. (2012). Real-time PCR assays for detection and quantitation of porcine and bovine DNA in gelatin mixtures and gelatin capsules. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(1), 83–87. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.06.008>
- Domb, A. J., Kost, J., Sheva, B., & Wiseman, D. M. (1997). Edited by. <http://doi.org/10.1097/00000433-198206000-00020>
- Erwanto, Y. (2018). Molecular Based Method Using PCR Technology on Porcine Derivative Derivative Detection Detection for Halal Authentication. In *Genotyping* (pp. 65–84). InTechOpen. <http://doi.org/10.5772/intechopen.76071>
- Erwanto, Y., Abidin, M. Z., Sismindari, X., & Rohman, A. (2012). Pig species identification in meatballs using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism for Halal authentication. *International Food Research Journal*, 19(3), 901–906.
- Girish, P. S., Anjaneyulu, A. S. R., Viswas, K. N., Shivakumar, B. M., Anand, M., Patel, M., & Sharma, B. (2005). Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science*, 70(1), 107–112. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.12.00>
- GMIA. (2012). *Gelatin Handbook*. Retrieved from http://gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), 436–456. <http://doi.org/10.1101/pdb.top095109>
- James, G. (2010). *PCR basics. PCR for Clinical Microbiology: An Australian and International Perspective*. http://doi.org/10.1007/978-90-481-9039-3_1
- Karim, A. A., & Bhat, R. (2008). Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food*

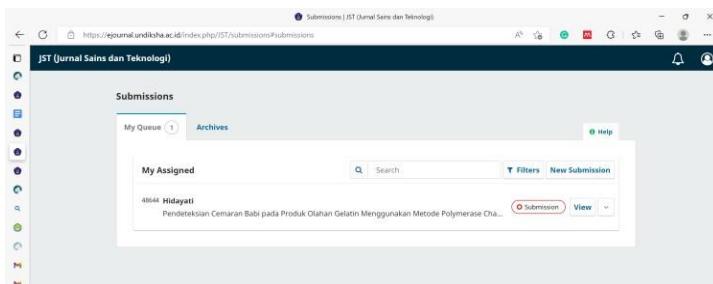
- Kocher, T., Thomas, W., Meyer, A., Edwards, S., Paabo, S., Villablanca, F., & Wilson, A. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(August), 6196–6200.
- Murugaiah, C., Noor, Z. M., Mastakim, M., Bilung, L. M., Selamat, J., & Radu, S. (2009). Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. *Meat Science*, 83(1), 57–61. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.015>
- Nur Azira, T., Amin, I., & Che Man, Y. (2012). Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via Sodium Dodecyl SulphatePolyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*, 19(3), 1175–1180.
- Presiden. (2014). Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal. *Igarss 2014*. http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7_2
- Rasmussen, H. B. (2010). Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis—valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*, 315–334. Retrieved from <http://cdn.intechopen.com/pdfs/35104.pdf>
- Sultana, S., Ali, M. E., & Ahamad, M. N. U. (2018). *Gelatine, collagen, and single cell proteins as a natural and newly emerging food ingredients. Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*. Elsevier Ltd. <http://doi.org/10.1016/b978-0-08-101892-7.00011-0>
- Suryani, N., Sulistiawati, F., Fajriani, A., Farmasi, P. S., & Kesehatan, I. (2009). Kekuatan Gel Gelatin Tipe B Dalam Formulasi Granul Terhadap Kemampuan Mukoadhesif. *Makara, Kesehatan*, 13(1), 1–4.
- Zhang, G., Liu, T., Wang, Q., Chen, L., Lei, J., Luo, J., Su, Z. (2009). Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin:

A new method to differentiate between bovine and porcine gelatin.
Food Hydrocolloids, 23(7), 2001–2007.
<http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.010>

Target Jurnal Internasional (Output)

Penelitian ini tidak menjadikan jurnal internasional sebagai bentuk luaran penelitian dikarenakan dana yang diberikan sangat kecil untuk penelitian molekuler. Dalam pelaksanaan penelitian ini pun, peneliti menggunakan dana pribadi untuk membeli beberapa keperluan riset yang tidak ter-cover oleh dana yang diberikan.

Lampiran Luaran Wajib



Lampiran Luaran Tambahan

- Draft artikel jurnal untuk di submit ke jurnal nasional terakreditasi SINTA-5
Al-Ulum :Jurnal Sains dan Teknologi

Bukti Indexed



Lampiran Luaran Wajib**Lampiran Luaran Tambahan****Bukti Indexed**

**SURAT PERNYATAAN
KESANGGUPAN PUBLIKASI PENELITIAN**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama lengkap : Dra. Fitriani, M. Si.

NIDN : 0027026401

Fakultas / Program Studi : fakultas farmasi dan Sains/S1 farmasi

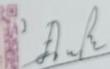
Menyatakan bahwa luaran ~~penelitian~~ tambahan pada Penelitian batch 1 Tahun 2021/2022 skema PPI dengan judul PENGUNAAN RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMERASE DALAM Pendeteksian Cemaran Babi PADA MARSHMALLOW CANDY akan dipublikasikan maksimal bulan ~~Desember~~ tahun 2023 sesuai dengan surat kontrak penelitian yang sudah saya tanda tangani.

Demikian surat pernyataan ini ditulis untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.
Jakarta, 22 Juni 2022

Dekan Fakultas Farmasi dan Sains



(Dr. apt. Hadi Sunaryo, M. Si)
NIDN: 0325067201



(Dra. Fitriani, M.Si.)
NIDN: 0027026401



SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 628/F.03.08/2022

Bismillahirrohmanirrohiim,
Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata/IIID / Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada semester ganjil tahun akademik **2022/2023** kepada :

N a m a	Dra. Fitriani, M.Si.
NIDN	0027026401
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata/ III-C
Jabatan Fungsional	LEKTOR
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN
1.	Penentuan Inhibition Concentration 50% Pada Teh Daun Moringa oleifera (Kelor)

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 05 September 2022

Dekan,

Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

**LAPORAN PENELITIAN
PENELITIAN KOLABORASI DOSEN DAN MAHASISWA**



**Penentuan *Inhibition Concentration 50%*
Pada Teh Daun *Moringa oleifera* (Kelor)**

Tim Peneliti

Dra Fitriani, M.Si : (NIDN0027026401)
Thasa Nabila Putri: (NIM 1704015269)

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2022**

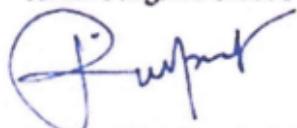
HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN KOLABORATIF DOSEN DENGAN MAHASISWA

Judul Penelitian	: Penentuan <i>Inhibition Concentration 50%</i> Pada Teh Daun <i>Moringa oleifera</i> (Kelor)
Ketua Peneliti	
a. Nama Lengkap	: Dra. Fitriani, M.Si
b. NIDN	: 0027026401
c. Jabatan Fungsional	: Lektor
d. Fakultas/Program Studi	: FFS/Farmasi
e. Hp	: 08119889945
f. Email	: fitriani_ffs@uhamka.ac.id
Mahasiswa	
a. Nama Lengkap	: Thasa Nabila Putri
b. NIM	: NIM : 1704015274
c. Fakultas/Program Studi	: FFS/ Farmasi
d. Waktu Penelitian	: Maret – Desember 2022
e. Luaran Penelitian	: Laporan

Jakarta, Desember 2022

Mengetahui,

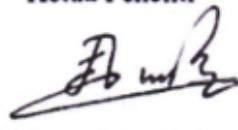
Ketua Program Studi Farmasi



Dr. apt. Rini Prastiwi, M.Si

NIDN. 0628097801

Ketua Peneliti



Dra. Fitriani, M.Si

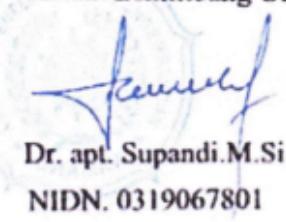
NIDN. 0027026401

Menyetujui,

Dekan Fakultas Farmasi dan Sains



Ketua Lemlitbang UHAMKA


Dr. apt. Supandi, M.Si
NIDN. 0319067801

ABSTRAK

Akhir-akhir ini tanaman kelor (*Moringa oleifera L.*) sudah mulai banyak dikenal masyarakat karena mempunyai banyak manfaat, *Moringa oleifera* adalah salah satu tanaman herbal karena bermanfaat bagi kesehatan yang mengandung banyak komponen bioaktif termasuk, fenol, flavonoid, tannin, vitamin dalam jumlah yang signifikan. Kelor sudah digunakan di berbagai bidang antara lain : bidang Kesehatan, farmasi, makanan, kosmetika dan kecantikan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antioksidan daun kelor yang sudah dalam bentuk teh. Penelitian ini menggunakan metode perendaman teh daun kelor dengan air mendidih. Uji aktifitas antioksidan menggunakan metode DPPH kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀). Hasil yang diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 9,34 ppm

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Teh daun kelor (*Moringa oleifera*).

DAFTAR ISI

	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
PLAGIARISME	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	4
2. Radikal Bebas	5
3. Antioksidan	6
4. DPPH	6
5. Spektrofotometri UV-Visible	7
6. Metode Penelitian Sebelumnya	10
B. Kerangka Berpikir	10
C. Hipotesis	11
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	12
A. Tempat dan Waktu Penelitian	12
1. Tempat Penelitian	12
2. Waktu Penelitian	12
B. Alat dan Bahan	12
1. Alat	12
2. Bahan	12
C. Pola Penelitian	12
D. Prosedur Penelitian	12
1. Pengambilan Sampel Teh Daun Kelor	12
2. Pembuatan Sampel	13
3. Pemeriksaan Organoleptik	13
4. Penapisan Fitokimia	13
5. Pengujian Kemampuan Antioksidan	14
6. Analisis Data	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
A. Hasil Pengambilan Sampel Teh Daun Kelor	17
B. Hasil Pemeriksaan Organoleptik	17
C. Hasil Penapisan Fitokimia	17
D. Pengujian Kemampuan Antioksidan	19
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	31
A. Simpulan	31

B. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

	Hlm
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organolepis Teh Daun Kelor	17
Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Teh Daun Kalor	17
Tabel 3. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 1	20
Tabel 4. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 2	21
Tabel 5. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 3	22
Tabel 6. Rata-rata nilai IC ₅₀ Baku Vitamin C	22
Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit	23
Replikasi 1	
Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit	23
Replikasi 2	
Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit	24
Replikasi 3	
Tabel 10. Rata-rata nilai IC ₅₀ Perendaman 5 Menit	25
Tabel 11. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 1	25
Tabel 12. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 2	25
Tabel 13. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 3	26
Tabel 14. Rata-rata nilai IC ₅₀ Perendaman 10 Menit	27
Tabel 15. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 Menit Replikasi 1	27
Tabel 16. Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor perendaman 15 Menit Replikasi 2	27
Hasil Perhitungan IC ₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 Menit	28
Replikasi 3	
Tabel 18. Rata-rata nilai IC ₅₀ Perendaman 15 Menit	29
Tabel 19. Tingkat Kekuatan Antioksidan Metode DPPH	29

DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	4
Gambar 2. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 1	21
Gambar 3. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 2	21
Gambar 4. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 3	22
Grafik Kurva Teh Daun Kelor 5 Menit Replikasi 1	23
Gambar 5.	23
Gambar 6. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 5 Menit Replikasi 2	24
Gambar 7. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 5 Menit Replikasi 3	24
Gambar 8. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 10 Menit Replikasi 1	25
Gambar 9. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 10 Menit Replikasi 2	26
Gambar10. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 10 Menit Replikasi 3	26
Gambar 11. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 15 Menit Replikasi 1	27
Gambar 12. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 15 Menit Replikasi 2	28
Gambar 13. Grafik Kurva Teh Daun Kelor 15 Menit Replikasi 3	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm	
Lampiran1.	Hasil Penapisan Fitokimia Teh Daun Kelor	34
Lampiran2.	Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH	35
Lampiran3.	Hasil <i>Operating Time</i> Vitamin C	36
Lampiran 4.	Pembuatan Larutan DPPH dan Seri Konsentrasi Vit C	38
Lampiran5.	Hasil IC ₅₀ Vitamin C	39
Lampiran 6.	Pembuatan Seri Konsentrasi Teh Daun	41
Lampiran 7.	Hasil IC ₅₀ Teh Daun Kelor	42
Lampiran 8.	Sertifikat DPPH	48

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru sebagai antioksidan.

Pohon kelor (*Moringa oleifera*) banyak dimanfaatkan sebagai tumbuhan pagar hidup, yang berguna sebagai tanaman penghijau. Selain itu, tanaman kelor juga dikenal sebagai tanaman berkhasiat obat dengan memanfaatkan seluruh bagian dari tanaman kelor mulai dari daun, kulit batang, biji, hingga akarnya (Toripah *et al.*, 2014).

Tanaman kelor banyak digunakan sebagai obat tradisional, dimana masyarakat sudah mengakui khasiatnya berdasarkan pengalaman dirinya, tanaman daun kelor secara ilmiah telah banyak diuji dan dikonfirmasi bahwa memiliki banyak manfaatnya. Dalam tanaman daun kelor banyak terdapat senyawa flavonoid, fenolat, asam askorbat dan karatenoid yang mengandung antioksidan alami. Daun kelor merupakan salah satu tanaman yang banyak mengandung nutrisipenting dalam jumlah yang tinggi. Pada penelitian telah diuji bahwa ekstrak air daun kelor banyak senyawa aktif alkaloid, saponin, tannin, fenol, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida (Pradana, 2019).

Banyak obat-obatan tradisional illegal yang dijual secara *online* dapat membahayakan bagi masyarakat, karena produk yang dijual secara *online* tidak terjamin keamanannya. Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) menemukan obat-obatan illegal yang dijual secara *online*. Salah satu jenis obat-obatan illegal yang paling banyak di jual produk jamu-jamuan yang mengandung bahan berbahaya untuk kesehatan masyarakat (Windy *et al.*, 2018).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan dengan kemampuan memblok proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, baik yang berasal dari produk samping metabolisme yang terjadi di dalam tubuh maupun yang berasal dari lingkungan seperti asap rokok, polusi udara, obat-obatan tertentu, sinar ultraviolet, dan radiasi. Salah satu antioksidan yang biasa digunakan adalah vitamin C.

Salah satu pengukuran aktivitas antioksidan yang paling umum digunakan adalah melalui penangkapan radikal bebas menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan seperti aktivitas penangkapan radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik pada suhu kamar, metode sederhana, mudah, menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dalam waktu yang singkat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV- Vis (Tutik dkk., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Sreelatha dan Padma, 2009), tanaman pada kelor mengandung antioksidan, terutama pada daunnya mengandung antioksidan yang paling tinggi. (Tuti dkk., 2018) menyatakan bahwa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L.*) yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar yaitu menggunakan pelarut etanol dengan nilai *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀) sebesar 103,98 µg/mL yang mengandung senyawagolongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin.

B. Permasalahan Penelitian

1. Bagaimana aktivitas antioksidan teh daun kelor yang beredar di toko online
2. Bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan teh daun kelor yang beredar secara online dengan yang diolah sendiri?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan teh daun kelor berdasarkan variasi lama perendaman dalam air mendidih

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah mengenai khasiat dari teh daun kelor sebagai uji aktivitas antioksidan dan bermanfaat terhadap perkembangan obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

a. Klasifikasi Tanaman Kelor (Roloff et al., 2009)

Kingdom	:	Plantae
Filum	:	Tracheophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Ordo	:	Capparales Famili
Famili	:	Moringaceae
Genus	:	Moringa
Spesies	:	<i>Moringa oleifera</i> Lam
Nama Daerah	:	Kelor

b. Deskripsi Tanaman



Gambar 1. Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Tanaman kelor (*Moringa Oleifera*) merupakan tanaman tropis yang tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia dan berbagai kawasan tropis lainnya di dunia. Tanaman kelor merupakan tanaman dengan ketinggian 7-11 meter. Tanaman ini berupa semak atau pohon dengan akar yang kuat, berumur panjang, batangnya berkayu getas (mudah patah), tegak, berwarna putih kotor, berkulit tipis, permukaankasar, dan jarang bercabang. Tanaman kelor memiliki bunga yang berwarna putih kekuning-kuningan yang keluar sepanjang tahun dengan aroma semerbak khas. Tanaman kelor memiliki buah berbentuk panjang dan segitiga dengan panjang sekitar 20-60 cm. Buah tanaman kelor berwana hijau

ketika masih muda dan berubah menjadi coklat ketika tua (Tilong, 2012). Daun kelor berbentuk bulat telur dengan tepi daun rata dan ukurannya kecil-kecil bersusun majemuk dalam satu tangkai (Tilong, 2012). Terdapat beberapa julukan untuk pohon kelor diantaranya *The Miracle Tree*, *Tree For Life*, dan *Amazing Tree*. Julukan tersebut muncul karena bagian pohon kelor mulai dari daun, buah, biji, bunga, kulit, batang, hingga akar memiliki manfaat yang luar biasa. Tanaman kelor mampu hidup di berbagai jenis tanah, tidak memerlukan perawatan yang intensif, tahan terhadap musim kemarau, dan mudah dikembangbiakkan (Simbolon dkk., 2007).

c. Kandungan Kimia

Kandungan tanaman kelor berdasarkan penelitian diketahui banyak mengandung nutrisi esensial seperti vitamin, mineral, asam amino, beta-karoten, antioksidan, antiinflamasi, omega 3 dan 6 (Kasolo *et al.*, 2010). Kelor juga mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan fenol (Oluduro, 2012)

d. Khasiat Daun Kelor

Kelor banyak digunakan sebagai tanaman obat diseluruh dunia untuk mengobati penyakit seperti infeksi kulit, anemia, anxietas, asma, darah kotor, bronkitis, radang selaput lendir, penyakit kolera dan banyak lainnya (Khawaja *et al.*, 2010). Kelor juga bermanfaat sebagai Moringa oleiferaanti inflamasi, antispasmodic, antihipertensi, antitumor, antioksidan, antipiretik, tukak lambung, antiepilepsi, diuretik, penurun kolestrol, antidiabetes (Paliwal *et al.*, 2011) dan aktifitas hepatoprotective (Huang *et al.*, 2012). Kelor juga banyak diketahui bermanfaat sebagai kosmetik seperti produk kecantikan kulit, vitamin rambut dan *conditioner* rambut (Khawaja *et al.*, 2010).

2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Adanya satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan menyebabkanR^{*} berkecenderungan mencari elektron untuk dijadikan pasangan untuk mencapai kondisi stabil dengan mengambil pasangan elektron dari

senyawa lain atau ditarik pada medan magnet tertentu (Uppu *et al.*, 2010). Radikal bebas pada umumnya mengikat molekul besar seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat). Apabila hal tersebut terjadi, maka akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan. Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya (Helliwell dan Gutteridge, 2000). Didalam tubuh, radikal bebas dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid menghasilkan beberapa produk akhir berupa Malondialdehid (Uppu *et al.*, 2010).

3. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang memperlambat atau menghambat stress oksidatif pada molekul target. Antioksidan melindungi molekul target antara lain dengan cara yakni dengan menangkap radikal bebas dengan menggunakan protein, mengurangi pembentukan radikal bebas dengan merubahnya menjadi radikal bebas yang kurang aktif, mengikat ion logam yang dapat menyebabkan timbulnya radikal bebas, melindungi komponen sel utama yang menjadi sasaran radikal bebas, memperbaiki target organ dari radikal bebas yang telah rusak, menggantikan sel yang rusak dengan sel baru (Maria dkk., 2014).

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Azwin, 2011). Antioksidan diklasifikasikan menjadi antioksidan enzimatik yakni antioksidan yang berupa enzim antara lain *superoxide dismutase*, *glutathione peroxidase* dan *catalase*. Sedangkan antioksidan nonenzimatik yakni antioksidan yang diperoleh dari tanaman atau hewan yaitu vitamin A, vitamin C, vitamin E, flavonoid, mineral (Winarsih, 2007).

4. DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazin)

Senyawa DPPH adalah radikal yang distabilkan oleh delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan menyebabkan DPPH tidak mudah membentuk dimer. DPPH berupa serbuk hablur berwarna hitam, DPPH larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat

diukur intensitasnya pada panjang gelombang 515 nm. Pencampuran radikal DPPH dengan substansi yang mampu menyumbangkan sebuah atom hidrogen akan memunculkan bentuk tereduksi yang ditunjukkan perubahan warna ungu menjadi kuning (Tutik dkk., 2018).

Perubahan warna ini dapat diukur secara spektrofotometri. Metode ini banyak dipilih karena mempunyai tingkat akurasi yang tinggi dan relatif lebih mudah dikerjakan. Sinyal DPPH biasanya terkonsentrasi dalam satu baris, intensitas sinyal meningkat berbanding lurus dengan akar kuadrat rentang kekuatan sinyal. DPPH digunakan untuk mendeteksi kemampuan senyawa yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas atau hidrogen donor dan mengukur aktivitas ekstrak jaringan. Prinsip kerja DPPH adalah sebagai indikator sifat radikal reaksi, penyerapan kuat yang berpusat di sekitar panjang gelombang 515 nm, mengakibatkan DPPH radikal memiliki warna ungu mendalam dalam larutan dan tidak bewarna atau pucat kuning ketika dinetralkan (Tutik dkk., 2018).

5. Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometer adalah instrumen yang memberikan informasi terkait dengan intensitas sinar yang diserap atau ditransmisikan sebagai fungsi panjang gelombang (Gandjar dan Rohmah, 2015). Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Jika cahaya (monokromatik atau heterogenik) jatuh pada medium homogen, sebagian dari cahaya yang mengenai medium akan dipantulkan, sebagian akan diserap oleh medium dan sisanya akan diteruskan (Voight, 1995).

a. Prinsip Spektrofotometer UV-Vis

Prinsip analisis spektrofotometer adalah spektroskopi, yaitu interaksi antara suatu gelombang elektromagnetik dapat berupa radiasi ultra violet, sinar tampak, radiasi infra merah, dan lain-lain. Jangkauan panjang gelombang untuk daerah ultraviolet adalah 190-380 nm, daerah cahaya tampak 380-780 nm

(Gandjar dan Rohmah, 2015).

Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron ikatan dan elektron *non* ikatan (elektron bebas). Sinar ultra lembayung dan sinar tampak merupakan energi yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron ini direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi sesuai dengan jenis elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorbsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorban (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektrofotometri UV-*Visible* dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya terdapat dua tipe spektrofotometer yaitu *single beam* dan *double beam*. *Single beam* untuk pengukuran sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. *Double beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm, *double beam* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pecahan sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua serentak melewati sampel (Sastrohamidjojo, 2007).

b. Komponen pada Spektrofotometer UV-Vis

1) Sumber radiasi

Beberapa sumber radiasi yang dipakai pada Spektrofotometer UV-Vis adalah lampu deuterium, lampu tungsten dan lampu merkuri.

- a) Sumber radiasi deuterium dapat dipakai pada daerah panjang gelombang 190 nm sampai 380 nm (daerah ultraviolet dekat). Umur sumber radiasi deuterium sekitar 500 jam pemakaian.
- b) Sumber radiasi tungstein merupakan campuran dari filamen tungstein dan gas iodine (*halogen*), oleh sebab itu disebut sumber radiasi tungstein-iodine.

Sumber tungsten-iodine ini dipakai pada spektrofotometer UV-Vis sebagai sumber radiasi pada daerah pengukuran sinar tampak dengan rentang panjang gelombang 380- 900 nm. Umur tungsten-iodine sekitar 1000 jam pemakaian.

c) Sumber radiasi merkuri adalah suatu sumber radiasi yang mengandung uap merkuri bertekanan rendah dan biasanya sumber radiasi merkuri ini dipakai untuk mengecek atau kalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis pada daerah ultra violet khususnya disekitar panjang gelombang 365 nm dan sekaligus mengecek resolusi dari monokromator (Sastrohamidjojo, 2007).

2) Monokromator

Berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis (Sastrohamidjojo, 2007).

3) Sel atau kuvet

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang akan dianalisis. Ditinjau dari bahan yang dipakai membuat kuvet ada dua macam yaitu kuvet dari leburan *silica*(kuarsa) dan kuvet dari gelas. Kuvet dari leburan *silica* dapat dipakai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada daerah pengukuran 190-1100 nm dan kuvet dari bahan gelas dipakai pada daerah pengukuran (380-1100nm) karena bahan dari gelas mengadsorbsi radiasi sinar UV (Sastrohamidjojo, 2007).

4) Detektor

Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer UV-Vis yang penting. Oleh sebab itu kualitas detektor akan menentukan kualitas spektrofotometer UV-Vis. Fungsi detektor didalam spektrofotometer adalah mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik. (Sastrohamidjojo, 2007).

5) Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Hukum ini secara sederhana dapat dinyatakan dalam rumus berikut (Warono dkk., 2013) :

yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh yang dapat diuji menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH.

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Teknologi, Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA.

2. Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Januari 2022 sampai Juli 2022.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Timbangan analitik (Ohaus), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), mikro pipet, gelas ukur (Iwaki Pyrex®), hot plate, labu ukur (Pyrex®), ultrasonic (BRANSON), aluminium foil, dan alat-alat gelas.

2. Bahan

DPPH, metanol, aquadest, vitamin C, teh daun kelor, reagen Bouchardat, reagen Mayer, reagen Dragendorff, etanol, FeCl₃, HCl 2N, HCl pekat, serbuk Mg.

C. Pola Penelitian

1. Pengambilan sampel teh daun kelor
2. Pembuatan sampel teh daun kelor
3. Pemeriksaan organoleptik teh daun kelor
4. Penapisan fitokimia teh daun kelor
5. Pengujian kemampuan aktivitas antioksidan sampel uji dengan spektrofotometri
6. Analisa data

D. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel Teh Daun Kelor

Sampel teh daun kelor yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh daun kelor yang beredar di toko obat tradisional online. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel

berdasarkan pertimbangan peneliti dilihat dari kriteria inklusi dan eksklusi (Rozaini, 2003) :

a. Kriteria Inklusi dalam penelitian ini adalah:

- 1) Teh daun kelor dengan komposisi hanya terdiri dari daun kelor tidak ada bahan tambahan lainnya.
- 2) Harga teh daun kelor kurang lebih Rp 11.000
- 3) Teh daun kelor yang dipilih adalah yang banyak dibeli oleh masyarakat.
- 4) Teh daun kelor yang dipilih adalah yang memiliki penilaian bintang 4 sampai 5 dari pembeli.

b. Kriteria Eksklusi dalam penelitian ini adalah:

- 1) Teh daun kelor yang memiliki tanggal kadaluarsa bulan Maret tahun 2022.
- 2) Teh daun kelor yang mengandung bahan lain selain daun kelor.

2. Pembuatan Sampel Teh Daun Kelor

Teh daun kelor yang telah dikeluarkan dari kantong tehnya ditimbang sebanyak 5 gram untuk masing-masing sampel perendaman kemudian dimasukan ke dalam *beaker glass*, tambahkan aquadest mendidih 250 ml kemudian diaduk dan disaring (Kusmiyati dkk., 2015). Pembuatan sampel teh daun kelor dilakukan dengan variasi lama perendaman yaitu :

Sampel 1 = 5 menit

Sampel 2 = 10 menit

Sampel 3 = 15 menit (Sasmito dkk., 2020)

3. Pemeriksaan Organoleptik Teh Daun Kelor

Pemeriksaan organoleptik adalah pemeriksaan pada bentuk, warna, bau dan rasa. Bentuk dapat dikategorikan serbuk. Warna yang ditimbulkan bisa bermacam-macam seperti hijau kecoklatan atau yang lainnya. Bau yang ditimbulkan dapat dibedakan menjadi khas aromatik dll. Rasa yang dihasilkan dapat berupa pahit dll.

4. Penapisan Fitokimia Teh Daun Kelor

a. Identifikasi flavonoid

Ambil larutan teh daun kelor sebanyak 1 ml tambahkan 2 ml metanol, panaskan kemudian saring. Filtrat ditambahkan serbuk Mg dan 1 ml asam

klorida pekat, kemudian kocok kuat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (Komang dkk., 2016).

b. Identifikasi Fenol

Ambil larutan teh daun kelor masukan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 2-4 tetes FeCl_3 1% jika terbentuk warna kehijauan, merah, ungu dan hitam menunjukkan adanya fenol (Komang dkk., 2016).

c. Identifikasi Alkaloid

Ambil larutan teh daun kelor masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 ml HCL 2 N dan 9 ml aquadest, setelah itu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat digunakan sebanyak 1 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff dan 2 tetes pereaksi Mayer pada tabung yang berbeda. Reaksi positif jika pada penambahan Dragendorff terbentuk endapan merah bata atau endapan putih pada penambahan pereaksi Mayer (Komang dkk., 2016).

d. Identifikasi Saponin

Ambil larutan teh daun kelor 1 ml tambahkan 10 ml aquadest, dikocok kuat kuat selama 10 menit kemudian tambahkan aquadest panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat kuat selama 10 detik. Akan terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N, buih tidak hilang (Komang dkk., 2016).

5. Pengujian Kemampuan Antioksidan Sampel Uji dengan Spektrofotometri

a. Pembuatan Larutan Pereaksi DPPH

Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai 100 ml didalam labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (100 ppm) sebagai larutan induk. Larutan disimpan dalam botol gelap (Zikra dkk., 2017).

b. Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C Standar

Timbang vitamin C sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan aquadest hingga 100 ml sambil diaduk dan dihomogenkan lalu didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Zikra dkk., 2017).

c. Pembuatan Larutan Teh Daun Kelor

Ambil larutan teh daun kelor perendaman 5 menit, 10 menit, 15 menit sebanyak 1 ml masukan kedalam labu ukur 100 ml dan tambahkan aquadest ke dalam labu ukur dihomogenkan kemudian cukupkan hingga 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Sasmito dkk., 2020).

d. Pengukuran Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH dipipet sebanyak 4 ml dengan konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, kemudian didiamkan pada suhu 37 °C pada ruangan gelap (terlindung dari sinar matahari). Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 - 800 nm (Zikra dkk., 2017).

e. Operating Time

Penentuan Operating time dilakukan dengan cara mengambil 1 mL larutan DPPH 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5 mL tambahkan dengan 1 mL larutan vitamin C. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan metanol hingga tanda batas labu ukur 5 mL. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan ditempat gelap dan diukur absorbansinya selama satu jam pada panjang gelombang yang telah didapatkan sebelumnya (Nganggu, 2016).

f. Uji Aktivitas Pembanding Vitamin C Standar

Dari variasi konsentrasi 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dilakukan pemipetan 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml larutan pembanding vitamin C kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml larutan DPPH, diinkubasi pada suhu ruang dan ditempat yang gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 546 nm.

g. Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Kelor

Dari variasi konsentrasi 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dilakukan pemipetan 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml dari larutan teh daun kelor induk. kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml larutan DPPH, diinkubasi pada suhu ruang dan ditempat yang gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 546 nm.

6. Analisa Data

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengambilan Sampel Teh Daun Kelor

Sampel teh daun kelor didapatkan dari toko obat tradisional online yang telah memenuhi kriteria inklusi dan ekslusi yang telah ditetapkan sebelumnya.

B. Hasil Organoleptik Teh Daun Kelor

Hasil uji organoleptik teh daun kelor dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Teh Daun Kelor

No.	Karakteristik	Hasil
1.	Bentuk	Serbuk
2.	Warna	Hijau Kecoklatan
3.	Bau	Khas Aromatik
4.	Rasa	Pahit

Uji organoleptik teh daun kelor dideskripsikan dengan menggunakan panca indera untuk mengetahui bentuk, warna, bau dan rasa pada teh. Teh daun kelor memiliki bentuk serbuk, warna hijau kecoklatan, bau khas dan rasa yang pahit.

C. Hasil Penapisan Fitokimia Teh Daun Kelor

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya metabolit sekunder yang terdapat pada teh daun kelor. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Teh Daun Kelor

No.	Uji Penapisan	Pengamatan	Hasil
1.	Flavonoid	Terbentuknya warna kuning jingga	Positif
2.	Fenol	Terbentuknya warna hijau kehitaman	Positif
3.	Alkaloid	Bouchardat : tidak terbentuk endapan Mayer : tidak terbentuk endapan Dragendroff : tidak terbentuk endapan	Negatif Negatif Negatif
4.	Saponin	Tidak terbentuk buih	Negatif

Uji identifikasi flavonoid menggunakan reaksi HCl pekat dan serbuk

Mg. Serbuk Mg bertujuan untuk membentuk ikatan dengan gugus karbonil flavonoid dan HCl pekat bertujuan untuk membentuk garam Flavilium sehingga membentuk warna merah-jingga (Afriani dkk., 2016). Hasil yang didapat menunjukkan sampel teh daun kelor yang direaksikan dengan pereaksi flavonoid adalah positif dengan terbentuknya warna kuning jingga, hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Antarini dkk., 2021) yang menunjukkan hasil positif pada pengujian flavonoid.

Uji identifikasi fenolik menggunakan pereaksi FeCl_3 dimana ion Fe^{3+} akan mengalami hibridisasi dengan fenol sehingga membentuk kompleks warna hijau, ungu, biru hingga hitam (Agustina dkk., 2017). Hasil yang didapat menunjukkan sampel teh daun kelor yang direaksikan dengan pereaksi fenolik adalah positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman, hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Antarini dkk., 2021) yang menunjukkan hasil positif pada pengujian fenolik.

Uji identifikasi alkaloid menggunakan 3 pereaksi yaitu Mayer, Bouchardat dan Dragendorff untuk melihat ada atau tidaknya endapan yang terbentuk. Seduhan teh daun kelor diteteskan terlebih dahulu dengan menggunakan asam klorida yang bertujuan untuk menarik alkaloid yang bersifat basa pada teh dengan larutan asam. Pada pereaksi Mayer, alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodomerurat (II) sehingga membentuk kompleks yang mengendap. Pada pereaksi Bouchardat, alkaloid akan membentuk ikatan kovalen dengan ion logam K^+ sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pada pereaksi Dragendorff, alkaloid akan membentuk kompleks dengan ion tetraiodabismutat (III) (Sulistyarini dkk., 2019). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel teh daun kelor yang direaksikan dengan pereaksi alkaloid adalah negatif dengan tidak terbentuknya endapan, hasil ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya (Antarini dkk., 2021) yang menunjukkan hasil positif pada pengujian alkaloid. Hal ini dapat terjadi dikarenakan adanya kontaminasi ataupun perbedaan pelarut sampel penelitian dengan pelarut sampel literatur sehingga hasilnya berbeda.

Uji identifikasi saponin dinyatakan positif jika buih yang dihasilkan tidak hilang setelah penambahan HCl. Buih yang timbul dikarenakan saponin merupakan

senyawa sebagian bersifat hidrofilik dan sebagian lagi bersifat hidrofobik sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan, saat digojok gugus hidrofil akan berikatan dengan air dan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Penambahan HCl bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil tersebut akan lebih stabil (Sulistryarini dkk., 2019). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel teh daun kelor yang direaksikan dengan pereaksi saponin adalah negatif dengan buih yang tidak stabil/hilang, hasil ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya (Antarini dkk., 2021) yang menunjukkan hasil positif pada pengujian saponin. Hal ini dapat terjadi dikarenakan adanya kontaminasiataupun perbedaan pelarut sampel penelitian dengan pelarut sampel literatur sehingga hasilnya berbeda.

Hasil penapisan fitokimia teh daun kelor menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung teh daun kelor adalah flavonoid dan fenolik. Hasil penapisan fitokimia teh daun kelor dapat dilihat pada lampiran 1.

D. Pengujian Kemampuan Antioksidan Sampel Uji dengan Spektrofotometri

Antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan proton kepada senyawa radikal bebas sehingga mampu menghambat rekasi oksidasi molekul lain dan dapat menetralisirkan radikal bebas (Julizan *et al.*, 2019). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan teh daun kelor menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja metode DPPH merupakan kolorimetri, dimana ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH maka warna ungu pada DPPH akan berubah menjadi kuning yang kemudian panjang gelombangnya diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV- Vis (Prakash dkk., 2001). Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mendapatkan serapan absorbansi yang maksimum, dari hasil penentuan panjang gelombang maksimum adalah 546,00 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang larutan induk DPPH pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah 546 nm dengan absorbansi 0,734. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada lampiran 2.

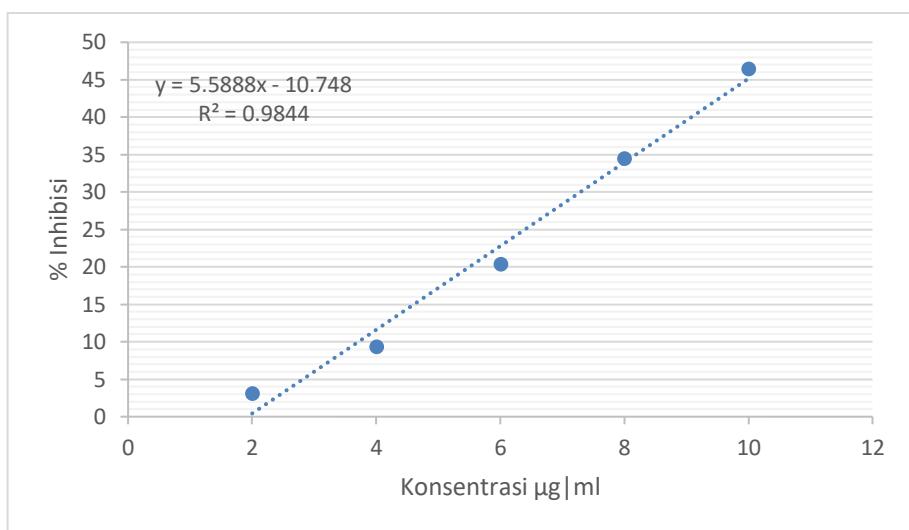
Penentuan *operating time* (OT) bertujuan untuk menentukan waktu optimum inkubasi sampel dengan larutan DPPH untuk bereaksi sempurna. Dipilihnya *operating time* berdasarkan saat penurunan absorbansi yang

dhasilkan relatif stabil (Molyneux, 2004). Bahan uji teh daun kelor dengan pembanding vitamin C yang direaksikan larutan DPPH dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 546 nm di menit 0 sampai menit 60. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada menit ke-35, absorbansi DPPH relatif konstan. Hasil *operating time* dapat dilihat pada lampiran 3.

Pada penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai baku standar dalam pengukuran aktivitas antioksidan dikarenakan senyawa vitamin C telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Hasil absorbansi vitamin C pada panjang gelombang 546 nm adalah sebesar 0,711. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum vitamin C dapat dilihat pada lampiran 2.

Tabel 3. Hasil Perhitungan IC₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 1

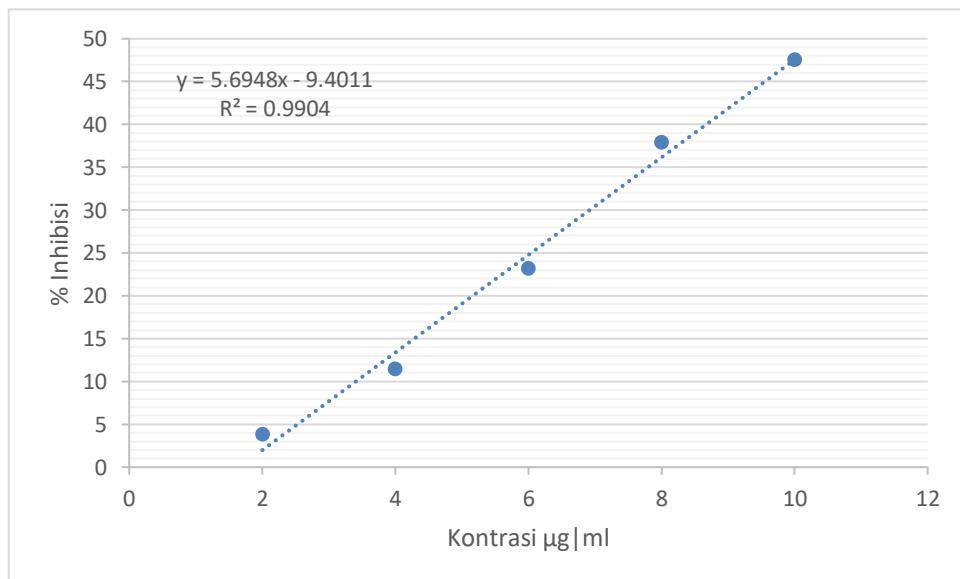
Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,711	3,133	
4	0,665	9,400	
6	0,584	20,435	10,8233 $\mu\text{g/ml}$
8	0,481	34,468	
10	0,390	46,486	



Gambar 2. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 1

Tabel 4. Hasil Perhitungan IC₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 2

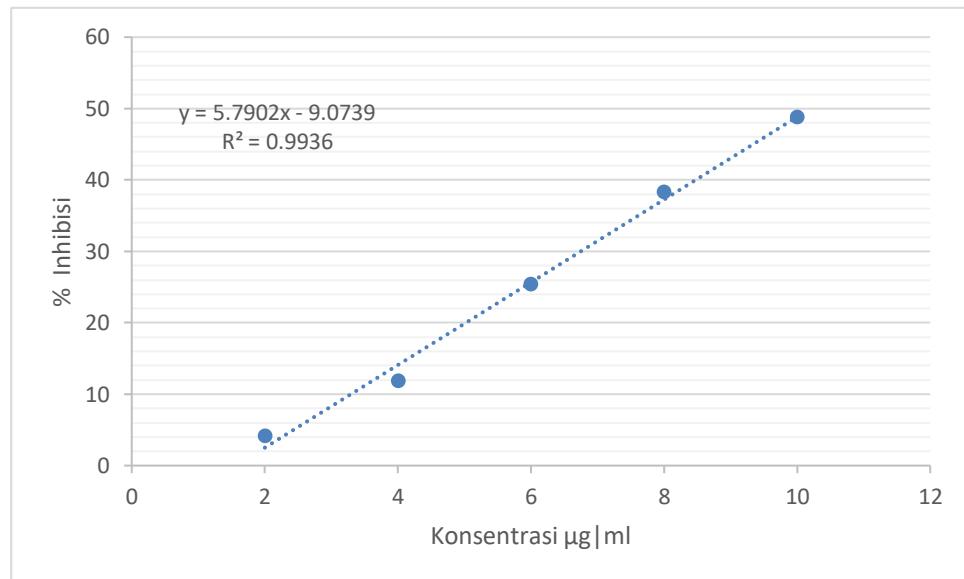
Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
2	0,706	3,814	
4	0,650	11,444	
6	0,564	23,160	
8	0,456	37,874	
10	0,385	47,547	10,4307 µg/ml



Gambar 3. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 2

Tabel 5 . Hasil Perhitungan IC₅₀ Baku Vitamin C Replikasi 3

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,704	4,087	
4	0,647	11,852	
6	0,548	25,340	
8	0,453	38,283	
10	0,376	48,773	

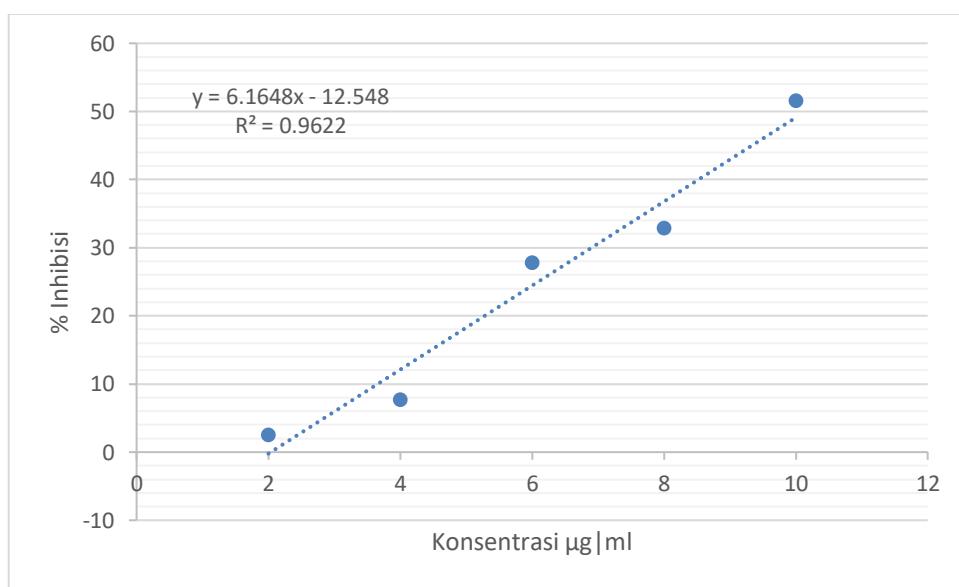
**Gambar 4. Grafik Kurva Baku Vitamin C Replikasi 3****Tabel 6. Rata-rata Nilai IC₅₀ Baku Vitamin C**

Replikasi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata ($\mu\text{g/ml}$)
1	10,8233	
2	10,4307	
3	10,2025	10,4855

Pada uji aktivitas antioksidan pembanding vitamin C, dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm, kemudian dari konsentrasi tersebut dibaca absorbansinya dan dihitung % inhibisi serta nilai IC₅₀. Pada tabel 1, 2, 3, menunjukkan hasil IC₅₀ dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat. Hasil perhitungan IC₅₀ pembanding vitamin C dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 7. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 menit Replikasi 1

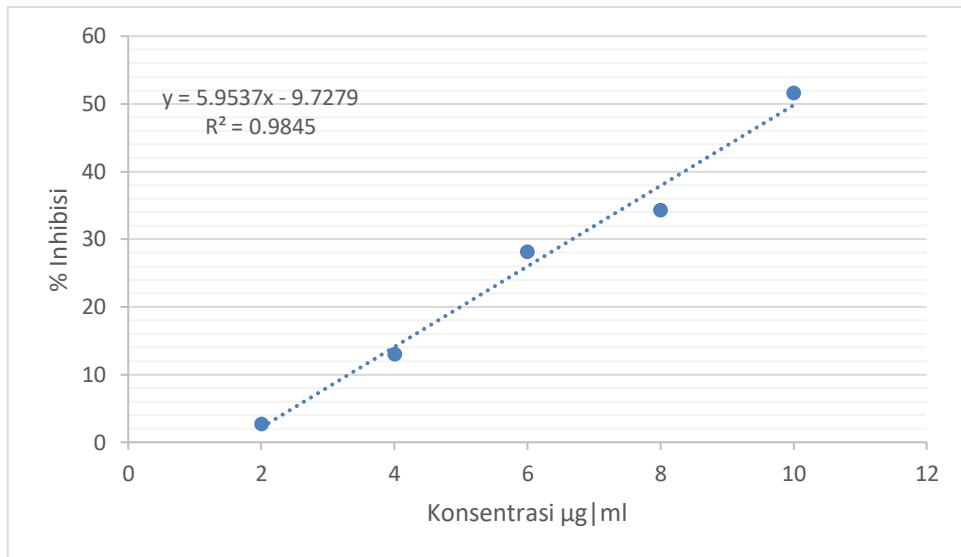
Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,716	2,452	
4	0,678	7,629	
6	0,530	27,792	
8	0,493	32,833	
10	0,356	51,498	



Gambar 5. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit Replikasi 1

Tabel 8. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 menit Replikasi 2

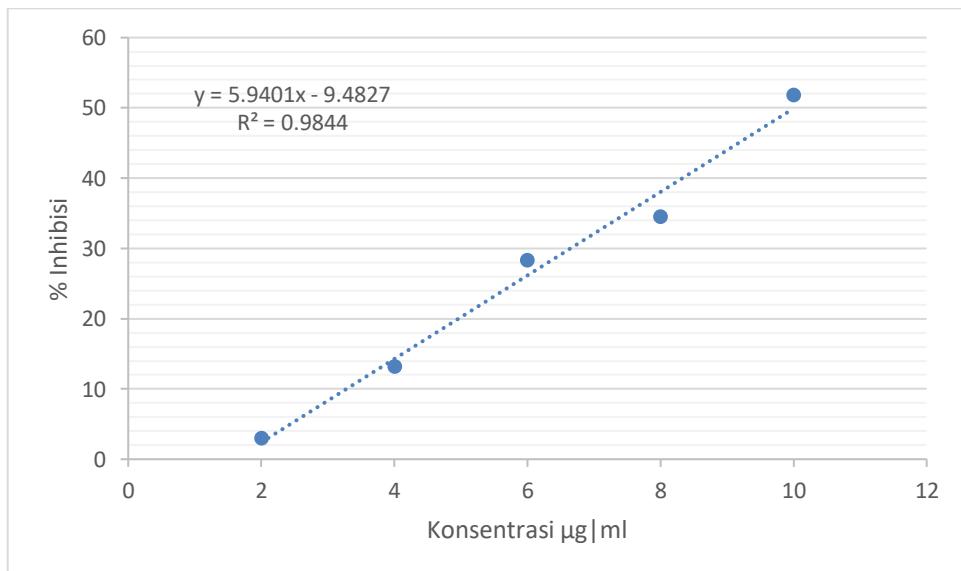
Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,714	2,724	
4	0,638	13,079	
6	0,527	28,201	
8	0,482	34,332	
10	0,355	51,634	



Gambar 6. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit Replikasi 2

Tabel 9. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 menit Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
2	0,712	2,997	
4	0,637	13,215	
6	0,526	28,337	10,0139 µg/ml
8	0,481	34,468	
10	0,354	51,771	



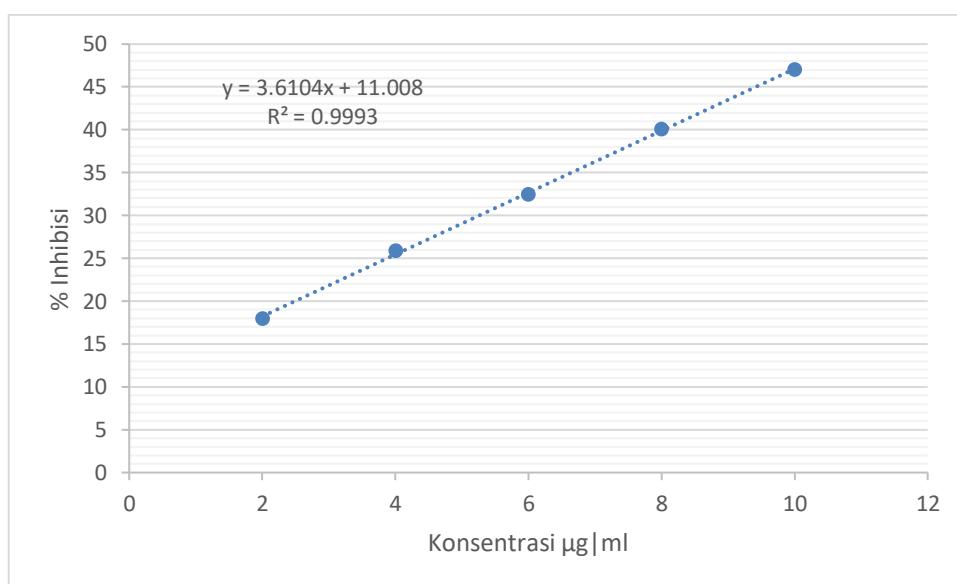
Gambar 7. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 5 Menit Replikasi 3

Tabel 10. Rata-rata Nilai IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 5 menit

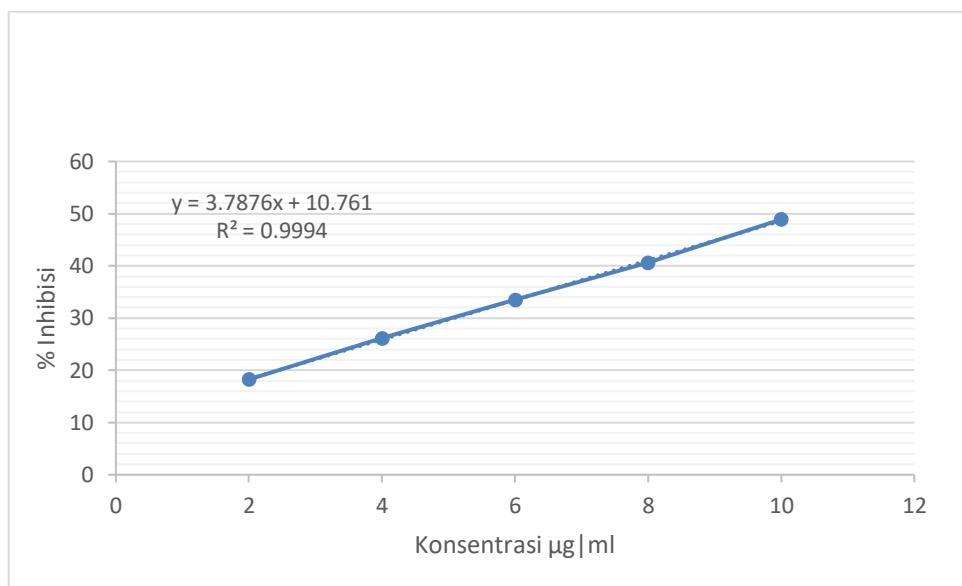
Replikasi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata ($\mu\text{g/ml}$)
1	10,1459	
2	10,0322	10,0640
3	10,0139	

Tabel 11. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 menit Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,602	17,983	
4	0,550	25,885	
6	0,496	32,425	10,7999 $\mu\text{g/ml}$
8	0,440	40,054	
10	0,389	47,002	

**Gambar 8. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 1****Tabel 12. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 menit Replikasi 2**

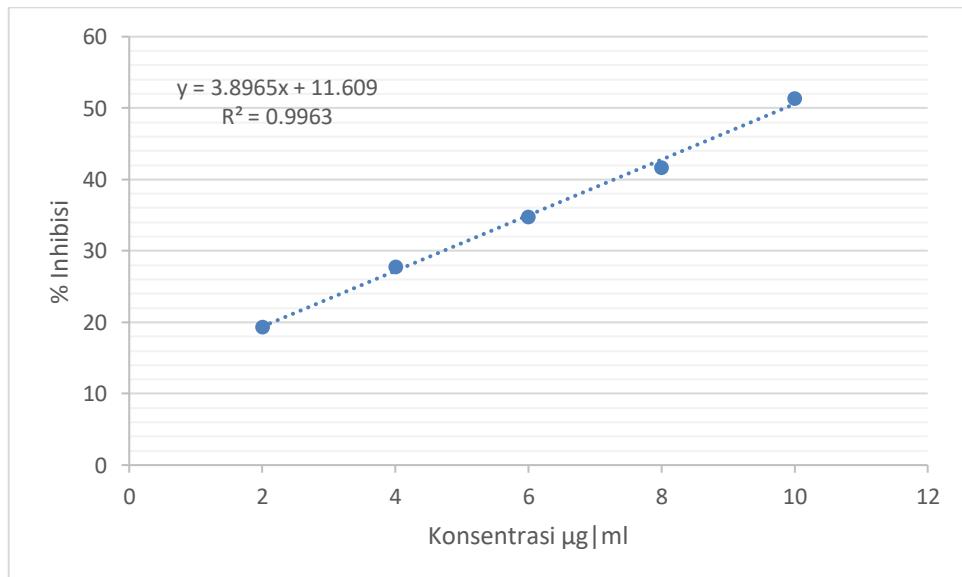
Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
2	0,600	18,256	
4	0,542	26,158	
6	0,488	33,514	10,3598 $\mu\text{g/ml}$
8	0,436	40,599	
10	0,375	48,910	



Gambar 9. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 2

Tabel 13. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 menit Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
2	0,592	19,346	
4	0,530	27,792	
6	0,479	34,747	
8	0,428	41,689	
10	0,357	51,362	9,8527 µg/ml



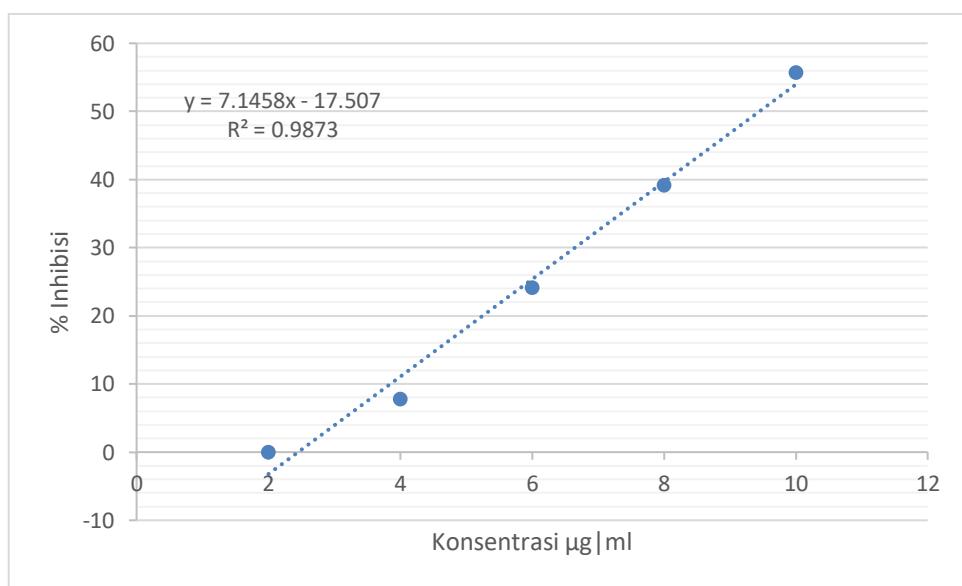
Gambar 10. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 10 Menit Replikasi 3

Tabel 14. Rata-rata Nilai IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 10 menit

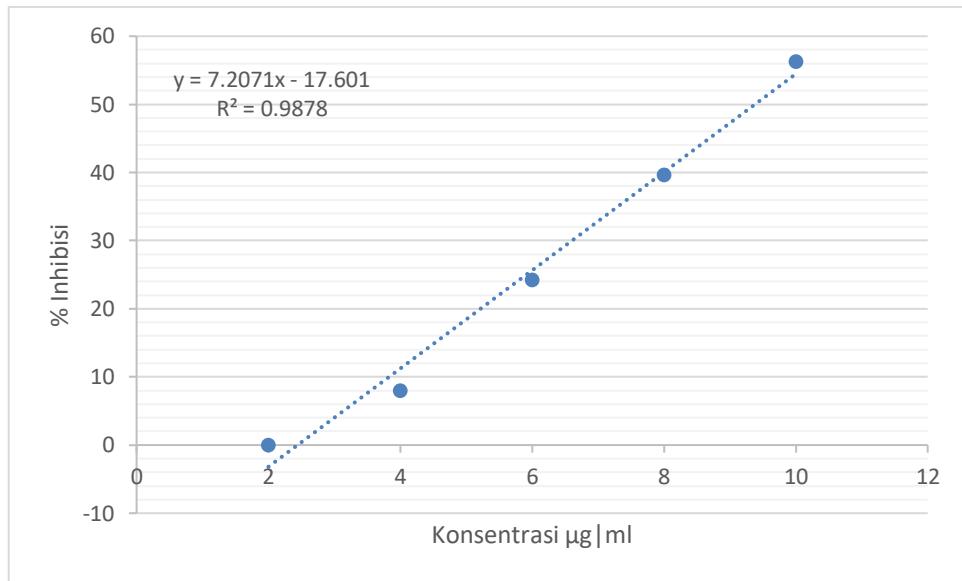
Replikasi	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Rata-rata ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	10,7999	
2	10,3598	10,3371
3	9,8527	

Tabel 15. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 menit Replikasi 1

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
2	0,755	0	
4	0,677	7,765	
6	0,557	24,114	9,4470 $\mu\text{g}/\text{ml}$
8	0,446	39,237	
10	0,325	55,722	

**Gambar 11. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 15 Menit Replikasi 1****Tabel 16. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 menit Replikasi 2**

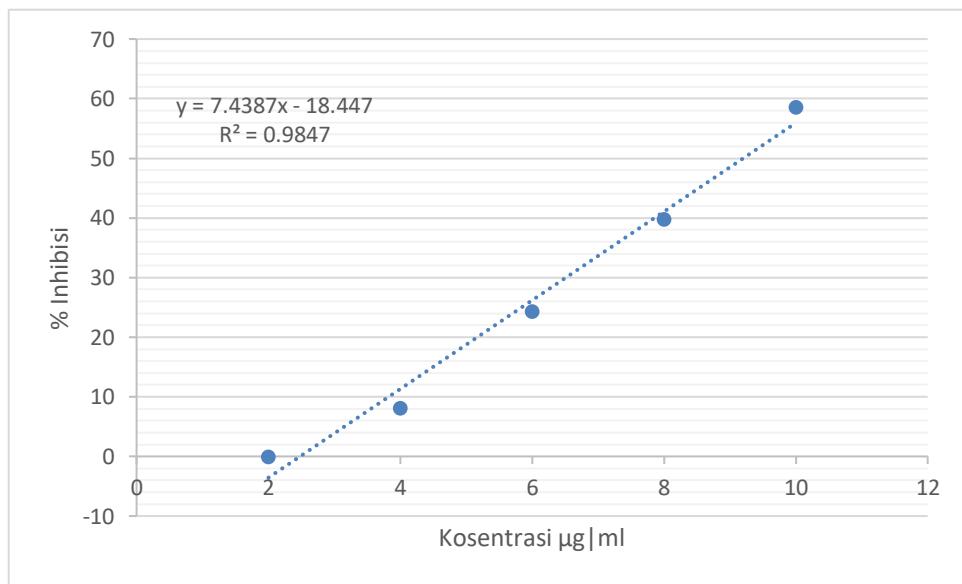
Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
2	0,751	0	
4	0,675	8,038	
6	0,556	24,255	9,3797 $\mu\text{g}/\text{ml}$
8	0,443	39,645	
10	0,321	56,267	



Gambar 12. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 15 Menit Replikasi 2

Tabel 17. Hasil Perhitungan IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 menit Replikasi 3

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
2	0,750	0	
4	0,674	8,174	
6	0,555	24,386	9,2015 µg/ml
8	0,442	39,782	
10	0,304	58,583	



Gambar 13. Grafik Kurva Teh Daun Kelor Perendaman 15 Menit Replikasi 3

Tabel 18. Rata-rata Nilai IC₅₀ Teh Daun Kelor Perendaman 15 menit

Replikasi	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Rata-rata ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	9,4470	
2	9,3797	9,3427
3	9,2015	

**Tabel 19. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH
(Sulistiwati dkk., 2021)**

Intensitas Antioksidan	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Sangat Kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-250
Lemah	250-500
Tidak Aktif	>500

Data pada Tabel 4 menunjukan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel uji teh daun kelor maka semakin tinggi juga aktivitas penangkal radikal DPPH, maka absorbansi yang telah dihasilkan semakin turun. Potensi aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilihat dari adanya penurunan nilai absorbansi yang disebabkan semakin meningkatnya nilai (%) aktivitas antioksidan sampel uji pada berbagai konsentasi. Perubahan warna pada sampel yang awalnya berwarna ungu semakin memudar dan menjadi agak kekuningan. Hal ini terjadi dikarenakan senyawa pada sampel yang bereaksi mentransfer atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga terjadinya reduksi menjadi bentuk yang lebih stabil (Molyneux, 2004).

Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter IC₅₀ (*Inhibition concentration*) yaitu konsentasi zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi zat antioksidan yang memberikan persentase inhibisi 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC₅₀ adalah nilai yang menunjukkan konsentrasi antioksidan yang mampu menghambat 50% oksidai atau aktivitas radikal bebas (Haeria dkk., 2016).

Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukan bahwa teh daun kelor mempunyai aktivitas antioksidan dengan waktu perendaman 5 menit nilai IC₅₀ 10,0640 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pada perendaman 10 menit IC₅₀ 10,3371 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan pada perendaman 15 menit 9,3427 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dari

hasil tersebut dapat dikategorikan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dilihat pada tabel 7. Hal ini dapat dikarenakan karena daun kelor memiliki senyawa metabolik sekunder fenol dan flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan.

Senyawa antioksidan dengan radikal bebas terjadi melalui mekanisme donasi atom hidrogen. Senyawa antioksidan yang bereaksi dengan DPPH akan tereduksi sehingga menyebabkan penurunan intensitas larutan DPPH yang semula berwarna ungu menjadi warna kuning dan ditandai dengan adanya penurunan nilai absorbansi karena terdapat perubahan warna larutan (Rizkayant dkk., 2017)

IC_{50} antara senyawa pembanding vitamin C dan sampel teh daun kelor dapat diakibatkan oleh kemampuan masing-masing senyawa dalam mendonasikan atom hidrogen kepada DPPH, semakin banyak atom hidrogen yang diberikan kepada DPPH akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansinya berarti meningkatkan persen perendaman dan menurunnya IC_{50} (Ikhlas, 2013). Faktor-faktor yang mungkin dapat menyebabkan tinggi dan rendah senyawa aktivitas antioksidan adalah sifat dari metode DPPH yang dapat rusak jika terkena cahaya, suhu tinggi, oksigen, pengeringan serta diduga masih adanya campuran senyawa aktif maupun non aktif (Putri dan Hidajati, 2015).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan perendaman teh daun kelor dengan air mendidih selama 15 menit, dilanjutkan pengukuran peredaman radikal bebas menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri UV-VIS dapat disimpulkan bahwa teh daun kelor memiliki IC₅₀ dengan sebesar 9,3427 ppm.

B. Saran

Adanya keterbatasan selama penelitian ini, dianjurkan untuk peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian yang serupa dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda dan lebih baik, sehingga dapat menentukan nilai IC₅₀ pada daun kelor.

DAFTAR PUSTAKA

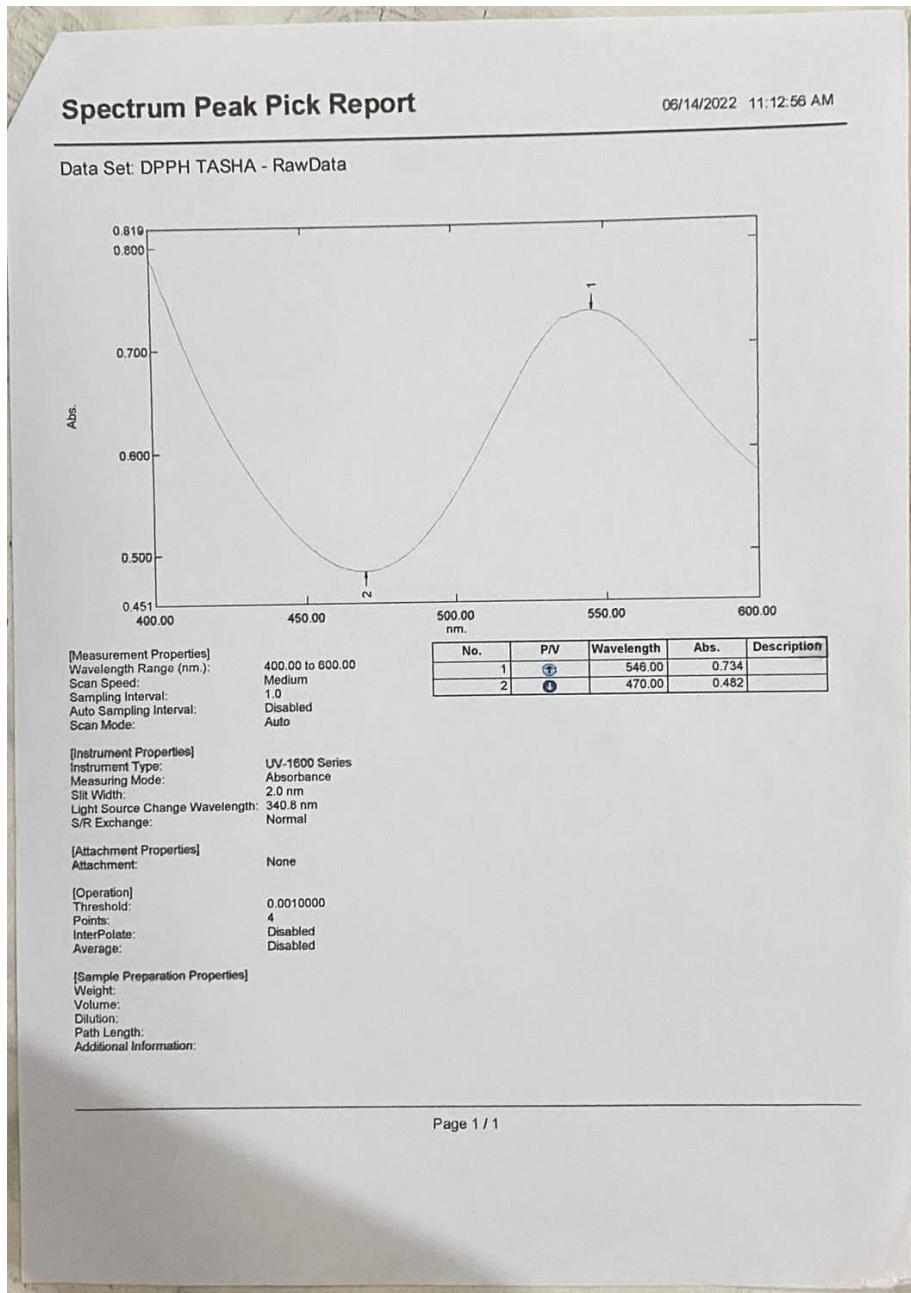
- Badriyah, Joela Achmadi, Limbang, 2017. Kelarutan Senyawa Fenolik dan Aktifitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa olefera*) di dalam Rumen secara In Vitro. *Jurnal Pertanian Indonesia*
- Gandjar,. I. G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 2000. Free Radical in Biology and Medicine. *Oxford University Press, New York, P.34.*
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol.1. Hal. 117-13.*
- Irnowati.,Sahumena, M.H., Dewi, W.O.N. 2016. Analisis Hidroquinon Pada Krim Pemutih Wajah dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi. Vol 5.No 3*
- Kasolo J. N., Gabriel S. B., Bimenya, Lonzy Ojok, Joseph Ochieng, Jasper W. 2010. Phytochemicals and Uses of *Moringa oleifera* Leaves in Ugandan Rural Communities, *Journal Of Medical Plant Research. Vol. 4*
- Komang,. N. M., Wayan,. M. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa olefiera*). *Jurnal Wahana Matematika dan Sains. Vol. 10 (2)*
- Maria, H., I., Herry S. 2014. Ekstrak Antioksidan dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Universitas Katolik Parahyangan.*
- Oluduro, A, O. 2012. Evaluation of Antimicroba Properties and Nutritional Potentials of *Moringa oleifera* Lam. Leaf in South-Western Nigeria. *Malaysian Journal of Mocrobiology, 8, 59-67*
- Permandi, Rikky, 2018. Pengembangan Metode Analisis Betametason Valerat dan Neomisin Sulfat Dalam Sediaan Krim Dengan Metode Rasio Absorbansi Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Journal of Applied Pharmaceutical*
- Pradana, D. L. C., Rika R., Via R. 2019. Pelatihan Pembuatan Teh Daun Kelor Sebagai Antioksidan dan Pencegah Diabetes Bagi Masyarakat Kampung Utan Depok. *Jurnal Keberlanjutan Program Pemberdayaan Masyarakat Era Revolusi Industri 4.0. Fakultas Kedokteran. Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta.*

- Roloff A, H Weisgerber, U Lang. 2009. Moringa Oleifera Lam, Enzyklopedie der Holzgewache, vol 40, pp. 1-8 Sastrohamidjojo Hardjono. 2007. *Spektroskopi. Edisi Ketiga*. Yogyakarta: Liberty.
- Simbolon, J.M., M. Sitorus, Nelly K. 2007. *Cegah Malnutrisi dengan Kelor*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sreelatha, S., Padma, P, R 2009. Antioxidant Activity And Total Phenolic Of Moringa Oleifera Leaves In Two Stage Of Maturity. *Plants Foods Hum Nurt*, 64, 303-311.
- Tilong, A.D. 2012. *Kelor Penakluk Diabetes*, 10-39. Diva Press : Yogyakarta.
- Toripah, S, S., Abidjulu, J., dan Wehantouw, F. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk). *Program Studi Farmasi FMIPA*
- Tutik, Nyoman, A, D dan Vida, E., 2018. Identifikasi Aktivitas Antioksidan Ekstra Daun Kelor Pada Variasi Pelarut Dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati Vol 1 No 2*
- Uppu, R.M., Murthy, S.N., Pryor, W.A., and Parinandi, N.L. 2010. *Free Radicals andAntioxidant Protocols*. Humana Press, New York, pp. 51-53.
- Voight, R., 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemah oleh Soendari Noerono, Gaja Mada University Press, Yogyakarta, 566-567
- Warono Dwi, Syamsudin, 2018. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Journal of Appiled Pharmaceutical Vol 2 (2)*
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Zikra, A, Zulharmita, Eki., Z. 2021. Uji Aktifitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Eksrak Buah Naga Merah Keunguan Secara Spektrifotometer UV- Vis. *Jurnal Farmasi Higea, Vol 9, No. 1*

LAMPIRAN 1 . Penapisan Fitokimia Teh Daun Kelor

No	Pengujian	Hasil	Keterangan	Kesimpulan
1.	Alkaloid		Mayer : Terbentuk endapan Dragendrof: Terbentuk endapan Bouchardat: Terbentuk endapan	Negatif (-)
2.	Fenolik		Hijau kehitaman	Positif (+)
3.	Flavanoid		Kuning, Jingga	Positif (+)
4.	Saponin		Tidak ada buih	Negatif (-)

LAMPIRAN 2 . Panjang Gelombang Maksimum DPPH



LAMPIRAN 3 . Operating Time Vitamin C Metode DPPH

Menit Ke -	Abs	Menit Ke -	Abs	Menit Ke -	Abs	Menit Ke -	Abs	Menit Ke -	Abs	Menit Ke -	Abs
0.000	0.6177	5.000	0.5903	10.000	0.576	15.000	0.5688	20.000	0.5685	25.000	0.5663
0.100	0.6176	5.100	0.5900	10.100	0.5753	15.100	0.5684	20.100	0.5684	25.100	0.5662
0.200	0.6162	5.200	0.5894	10.200	0.5753	15.200	0.5685	20.200	0.5684	25.200	0.5662
0.300	0.6140	5.300	0.5885	10.300	0.5745	15.300	0.5684	20.300	0.5680	25.300	0.5662
0.400	0.6134	5.400	0.5880	10.400	0.5746	15.400	0.5684	20.400	0.5680	25.400	0.5662
0.500	0.6127	5.500	0.5878	10.500	0.5745	15.500	0.5680	20.500	0.5679	25.500	0.5662
0.600	0.6127	5.600	0.5873	10.600	0.5745	15.600	0.5680	20.600	0.5679	25.600	0.5662
0.700	0.6134	5.700	0.5867	10.700	0.5743	15.700	0.5680	20.700	0.5679	25.700	0.5662
0.800	0.6125	5.800	0.5861	10.800	0.5739	15.800	0.5677	20.800	0.5677	25.800	0.5662
0.900	0.6116	5.900	0.5861	10.900	0.5737	15.900	0.5684	20.900	0.5677	25.900	0.5662
1.000	0.6104	6.000	0.5856	11.000	0.5737	16.000	0.5677	21.000	0.5679	26.000	0.5662
1.100	0.6102	6.100	0.5851	11.100	0.5741	16.100	0.5685	21.100	0.5674	26.100	0.5659
1.200	0.6094	6.200	0.5846	11.200	0.5737	16.200	0.6591	21.200	0.5674	26.200	0.5657
1.300	0.6088	6.300	0.5846	11.300	0.5741	16.300	0.5684	21.300	0.5674	26.300	0.5662
1.400	0.6069	6.400	0.5842	11.400	0.5734	16.400	0.5677	21.400	0.5679	26.400	0.5674
1.500	0.6068	6.500	0.5842	11.500	0.5729	16.500	0.5677	21.500	0.5677	26.500	0.5667
1.600	0.6064	6.600	0.5835	11.600	0.5729	16.600	0.5677	21.600	0.5677	26.600	0.5662
1.700	0.6050	6.700	0.5833	11.700	0.5726	16.700	0.5673	21.700	0.5677	26.700	0.5659
1.800	0.6045	6.800	0.5833	11.800	0.5723	16.800	0.5674	21.800	0.5674	26.800	0.5671
1.900	0.6064	6.900	0.5829	11.900	0.5723	16.900	0.5674	21.900	0.5674	26.900	0.5659
2.000	0.6034	7.000	0.5828	12.000	0.5721	17.000	0.5674	22.000	0.5673	27.000	0.5662
2.100	0.6025	7.100	0.5828	12.100	0.5723	17.100	0.5674	22.100	0.5674	27.100	0.5662
2.200	0.6019	7.200	0.5818	12.200	0.5717	17.200	0.5674	22.200	0.5674	27.200	0.5662
2.300	0.6025	7.300	0.5818	12.300	0.5717	17.300	0.5684	22.300	0.5674	27.300	0.5663
2.400	0.6018	7.400	0.5814	12.400	0.5717	17.400	0.5688	22.400	0.5674	27.400	0.5663
2.500	0.6008	7.500	0.5811	12.500	0.5712	17.500	0.5679	22.500	0.5673	27.500	0.5669
2.600	0.6005	7.600	0.5811	12.600	0.5712	17.600	0.5679	22.600	0.5674	27.600	0.5663
2.700	0.6005	7.700	0.5802	12.700	0.5714	17.700	0.5680	22.700	0.5674	27.700	0.5667
2.800	0.5995	7.800	0.5801	12.800	0.5709	17.800	0.5674	22.800	0.5673	27.800	0.5662
2.900	0.5988	7.900	0.5802	12.900	0.5709	17.900	0.5680	22.900	0.5673	27.900	0.5669
3.000	0.5988	8.000	0.5806	13.000	0.5708	18.000	0.5677	23.000	0.5677	28.000	0.5665
3.100	0.5983	8.100	0.5802	13.100	0.5707	18.100	0.5674	23.100	0.5674	28.100	0.5662
3.200	0.5981	8.200	0.5791	13.200	0.5704	18.200	0.5688	23.200	0.5671	28.200	0.5657
3.300	0.5979	8.300	0.5785	13.300	0.5704	18.300	0.5684	23.300	0.5674	28.300	0.5657
3.400	0.5974	8.400	0.5792	13.400	0.5702	18.400	0.5677	23.400	0.5674	28.400	0.5662
3.500	0.5964	8.500	0.5789	13.500	0.5704	18.500	0.5680	23.500	0.5669	28.500	0.5662
3.600	0.5964	8.600	0.5785	13.600	0.5704	18.600	0.5674	23.600	0.5669	28.600	0.5657
3.700	0.5953	8.700	0.5780	13.700	0.5701	18.700	0.5674	23.700	0.5673	28.700	0.5657
3.800	0.5951	8.800	0.5780	13.800	0.5697	18.800	0.5677	23.800	0.5671	28.800	0.5657
3.900	0.5947	8.900	0.5773	13.900	0.5701	18.900	0.5674	23.900	0.6667	28.900	0.5659
4.000	0.5942	9.000	0.5773	14.000	0.5698	19.000	0.5673	24.000	0.5671	29.000	0.5659
4.100	0.5938	9.100	0.5765	14.100	0.5695	19.100	0.5674	24.100	0.5667	29.100	0.5663
4.200	0.5936	9.200	0.5763	14.200	0.5695	19.200	0.5674	24.200	0.5667	29.200	0.5665
4.300	0.5928	9.300	0.5765	14.300	0.5698	19.300	0.5677	24.300	0.5665	29.300	0.5665
4.400	0.5925	9.400	0.5760	14.400	0.5695	19.400	0.5673	24.400	0.5665	29.400	0.5662
4.500	0.5923	9.500	0.5760	14.500	0.5691	19.500	0.5679	24.500	0.5665	29.500	0.5665
4.600	0.5920	9.600	0.5763	14.600	0.5695	19.600	0.5684	24.600	0.5667	29.600	0.5665
4.700	0.5909	9.700	0.5757	14.700	0.5688	19.700	0.5684	24.700	0.5667	29.700	0.5662
4.800	0.5914	9.800	0.5757	14.800	0.5691	19.800	0.5677	24.800	0.5662	29.800	0.5663
4.900	0.5907	9.900	0.5759	14.900	0.5686	19.900	0.5680	24.900	0.5665	29.900	0.5662
5.000	0.5903	10.000	0.5760	15.000	0.5688	20.000	0.5685	25.000	0.5663	30.000	0.5665
Rata - Rata	0.6022	5 - 10	0.5885	10 - 15	0.5717	15 - 20	0.5697	20 - 25	0.5693	25 - 30	0.5661
Standar Deviasi	0 - 5 Menit	Menit	0.0042	Menit	0.0020	Menit	0.0129	Menit	0.0141	Menit	0.0015

LAMPIRAN 4 . Pembuatan Larutan DPPH dan Seri Konsentrasi Vitamin C

Diketahui:

Larutan Induk Vitamin C dibuat dengan konsentrasi $100\mu\text{g}/\text{ml}$

Bobot Vitamin C yang akan ditimbang sebesar 10 mg

Volume yang akan dibuat 10 ml

Pembuatan Seri konsentrasi Larutan Vitamin C dengan variasi konsentrasi berikut :

$$2 \text{ ppm} = \frac{2}{100} \times 25 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml larutan vitamin C yang diambil dari larutan induk}$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{4}{100} \times 25 \text{ ml} = 1 \text{ ml larutan vitamin C yang diambil dari larutan induk}$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{6}{100} \times 25 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml larutan vitamin C yang diambil dari larutan induk}$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{8}{100} \times 25 \text{ ml} = 2 \text{ ml larutan vitamin C yang diambil dari larutan induk}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{10}{100} \times 25 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml larutan vitamin C yang diambil dari larutan induk}$$

LAMPIRAN 5 . Hasil IC₅₀ Vitamin C dengan Metode DPPH

A. Absorbansi Blanko DPPH

Tabel . Hasil Absorbansi Blanko DPPH

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
Blanko	0,734

B. Perhitungan Hasil Kurva Kalibrasi Vitamin C

Replikasi 1

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,711}{0,734} \times 100\% = 3,133\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,665}{0,734} \times 100\% = 9,400\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,584}{0,734} \times 100\% = 20,435\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,481}{0,734} \times 100\% = 34,468\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,390}{0,734} \times 100\% = 46,486\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-10,748)}{5,5888}$$

$$= 10,8233 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,706}{0,734} \times 100\% = 3,814\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,650}{0,734} \times 100\% = 11,444\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,564}{0,734} \times 100\% = 23,160\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,456}{0,734} \times 100\% = 37,874\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,385}{0,734} \times 100\% = 47,547\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-9,4011)}{5,6948}$$

$$= 10,4307 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,704}{0,734} \times 100\% = 4,087\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,647}{0,734} \times 100\% = 11,852\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,548}{0,734} \times 100\% = 25,340\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,453}{0,734} \times 100\% = 38,283\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,376}{0,734} \times 100\% = 48,773\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-9,0739)}{5,7901}$$

$$= 10,2025 \mu\text{g/ml}$$

Rata-rata = 10,4855 μg/ml

LAMPIRAN 6. Pembuatan Seri Konsentrasi Teh Daun Kelor

Pembuatan larutan induk teh daun kelor dibuat dengan konsentrasi $1000\mu\text{g}/\text{ml}$

Bobot teh daun kelor yang akan ditimbang sebesar 10 mg

Volume yang akan dibuat 10 ml

Pembuatan Seri konsentrasi teh daun kelor dengan variasi konsentrasi berikut :

$$2 \text{ ppm} = \frac{2}{100} \times 25 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml larutan teh daun kelor yang diambil dari larutan induk}$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{4}{100} \times 25 \text{ ml} = 1 \text{ ml larutan teh daun kelor yang diambil dari larutan induk}$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{6}{100} \times 25 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml larutan teh daun kelor yang diambil dari larutan induk}$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{8}{100} \times 25 \text{ ml} = 2 \text{ ml larutan teh daun kelor yang diambil dari larutan induk}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{10}{100} \times 25 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml larutan teh daun kelor yang diambil dari larutan induk}$$

LAMPIRAN 7. Hasil IC₅₀ Teh Daun Kelor dengan Metode DPPH

A. Absorbansi Blanko DPPH

Tabel . Hasil Absorbansi Blanko DPPH

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
Blanko	0,734

B. Perhitungan Hasil Kurva Kalibrasi Teh Daun Kelor Teh Daun Kelor (Perendaman 5 menit)

Replikasi 1

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,716}{0,734} \times 100\% = 2,452\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,678}{0,734} \times 100\% = 7,629\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,530}{0,734} \times 100\% = 27,792\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,493}{0,734} \times 100\% = 32,833\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,356}{0,734} \times 100\% = 51,498\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-12,548)}{6,1648}$$

$$= 10,1459 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,714}{0,734} \times 100\% = 2,724\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,638}{0,734} \times 100\% = 13,079\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,527}{0,734} \times 100\% = 28,201\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,482}{0,734} \times 100\% = 34,332\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,355}{0,734} \times 100\% = 51,634\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-9,7279)}{5,9537}$$

$$= 10,0322 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,712}{0,734} \times 100\% = 2,997\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,637}{0,734} \times 100\% = 13,215\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,526}{0,734} \times 100\% = 28,337\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,481}{0,734} \times 100\% = 34,468\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,354}{0,734} \times 100\% = 51,771\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-9,4827)}{5,9401}$$

$$= 10,0139 \mu\text{g/ml}$$

Rata-rata = 10,3371 μg/ml

**C. Perhitungan Hasil Kurva Kalibrasi Teh Daun Kelor Teh Daun Kelor
(Perendaman 10 menit)**

Replikasi 1

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,602}{0,734} \times 100\% = 17,983\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,550}{0,734} \times 100\% = 25,885\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,496}{0,734} \times 100\% = 32,425\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,440}{0,734} \times 100\% = 40,054\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,389}{0,734} \times 100\% = 47,002\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (11,008)}{3,6104}$$

$$= 10,7999 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,600}{0,734} \times 100\% = 18,256\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,542}{0,734} \times 100\% = 26,158\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,488}{0,734} \times 100\% = 33,514\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,436}{0,734} \times 100\% = 40,599\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,375}{0,734} \times 100\% = 48,910\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (10,761)}{3,7876}$$

$$= 10,3598 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,592}{0,734} \times 100\% = 4,087\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,530}{0,734} \times 100\% = 19,346\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,479}{0,734} \times 100\% = 27,792\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,428}{0,734} \times 100\% = 41,689\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,357}{0,734} \times 100\% = 51,362\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (11,609)}{3,8965}$$

$$= 9,4470 \mu\text{g/ml}$$

Rata-rata = 10,3371 μg/ml

D. Perhitungan Hasil Kurva Kalibrasi Teh Daun Kelor Teh Daun Kelor (Perendaman 15 menit)

Replikasi 1

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,755}{0,734} \times 100\% = 0\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,677}{0,734} \times 100\% = 7,765\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,557}{0,734} \times 100\% = 24,114\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,446}{0,734} \times 100\% = 39,237\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,325}{0,734} \times 100\% = 55,722\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-17,507)}{7,1458}$$

$$= 9,4470 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 2

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,751}{0,734} \times 100\% = 0\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,675}{0,734} \times 100\% = 8,038\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,556}{0,734} \times 100\% = 24,255\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,443}{0,734} \times 100\% = 39,645\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,321}{0,734} \times 100\% = 56,267\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-17,601)}{7,2071}$$

$$= 9,3797 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi 3

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,750}{0,734} \times 100\% = 0\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,674}{0,734} \times 100\% = 8,174\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,555}{0,734} \times 100\% = 24,386\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,442}{0,734} \times 100\% = 39,782\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\% = \frac{0,734 - 0,304}{0,734} \times 100\% = 58,583\%$$

$$IC_{50} = y = bx \pm a$$

$$X = \frac{50 - (-18,447)}{7,4387}$$

$$= 9,2015 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Rata-rata} = 9,3427 \mu\text{g/ml}$$