

## DAFTAR PUSTAKA

1. Murty TK, Asri PP. 101 Ramuan Tradisional Untuk Mengatasi Berbagai Penyakit. Yogyakarta. PT Pustaka Insan Mandiri. 2010.
2. Serlahwaty D, Sevian AN. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry dan Tomat dengan Metode ABTS. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia. 2016.
3. Winarsy H. Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: PT Kanisius. 2007.
4. Bangun A. Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia 101 Tumbuhan Obat Menakjubkan Untuk Kesembuhan dan Kebugaran Optimal. Bandung. Indonesia Publishing House. 2012.
5. Arifin H, Alwi TI, Aisyahharma O, Juwita DA. Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L) Pada Mencit Putih Jantan. Jurnal Sains Farmasi & Klinis. 2018. 41-42p.
6. Heyne K. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Jakarta. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Departemen Kehutanan. 1987. 1821p.
7. Nuraini , DN. Aneka Daun Berkhasiat Obat. Yogyakarta. Gava Media. 2014. 106-107p.
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan .1985. 1-15p.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta.2000. 5p.
10. Hanani E. Analisis Fitokima. Jakarta. EGC. 2015. 11-13p.
11. Kesuma S, Yenrina R. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang. Andalas University Press. 2015.
12. Wulansari AN. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami. Review. Farmaka. 2018;16(2). 425p.
13. Maryam S, Pratama R, Effendi N, Naid T. Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifida* L.) dengan Metode CUPRAC. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 2018;2(1). 90-91p.

14. Selawa W, Runtuwene MRJ, Ciraningtyas G. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 2013;2(1). 19p.
15. Wulandari, Lestyo. *Kromatografi Lapis Tipis Jember*. PT Taman Kampus Presindo. 2011. 1-11p.
16. Alen Y, Agresa FL, Yuliandra Y. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung (*Schizostachyum brachycladum* Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2017. 148p.
17. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*. 1 st ed. Jakarta, 2013. 90-102p.
18. Harmita. *Analisis Fisikokimia Kromatografi*. Jakarta. EGC.2014.
19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia Jilid III*. Jakarta. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1979. 155p.
20. Djamil R, Anelia T. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2009. 66-68p.
21. Fajriaty I, IH Hariyanto, Andres, Setyaningrum R. Skrinning fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol daun bintangur. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*. 2018.
22. Wahdaningsih S, Wahyuno S, Riyanto S, Murwanti R. Penetapan kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Fraksi Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyhizus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*. 2017;6(3).
23. Yuslianti E, Faramayuda F, Juliastuti H, Rakhmat I, Handayani D. *Prinsip Dasar Pemeriksaan Radikal Bebas & Antioksidan*. Yogyakarta. 2018. 23-25p.
24. BPOM. *Peraturan Kepala Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 2014. 11p.
25. Herdianto FA, Hazar Y, Fitriyaningsih SP. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak dan Karakterisasi Fitokimia Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C.Presl) terhadap *Candida Albicans*. *Prosiding Farmasi*. 2017. 659p.

26. Ahmad AR, Juwita, Siti ADR. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala. Pharm Sci Res. 2015; 2(1). 3-4p.



# LAMPIRAN 1

## DETERMINASI TUMBUHAN



**Gambar V.1** Hasil Determinasi Tumbuhan Daun Tolod

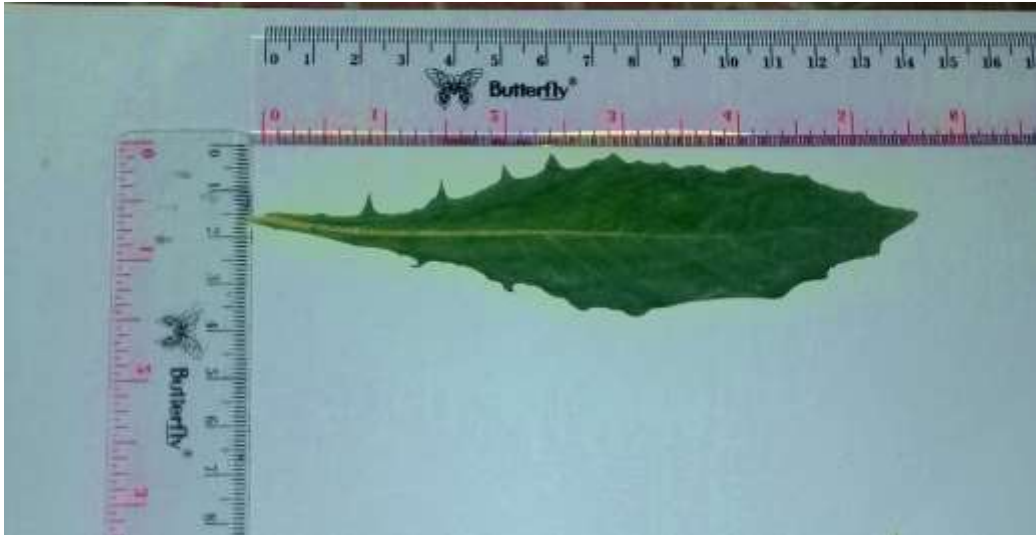
## LAMPIRAN 2

### TUMBUHAN DAUN TOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

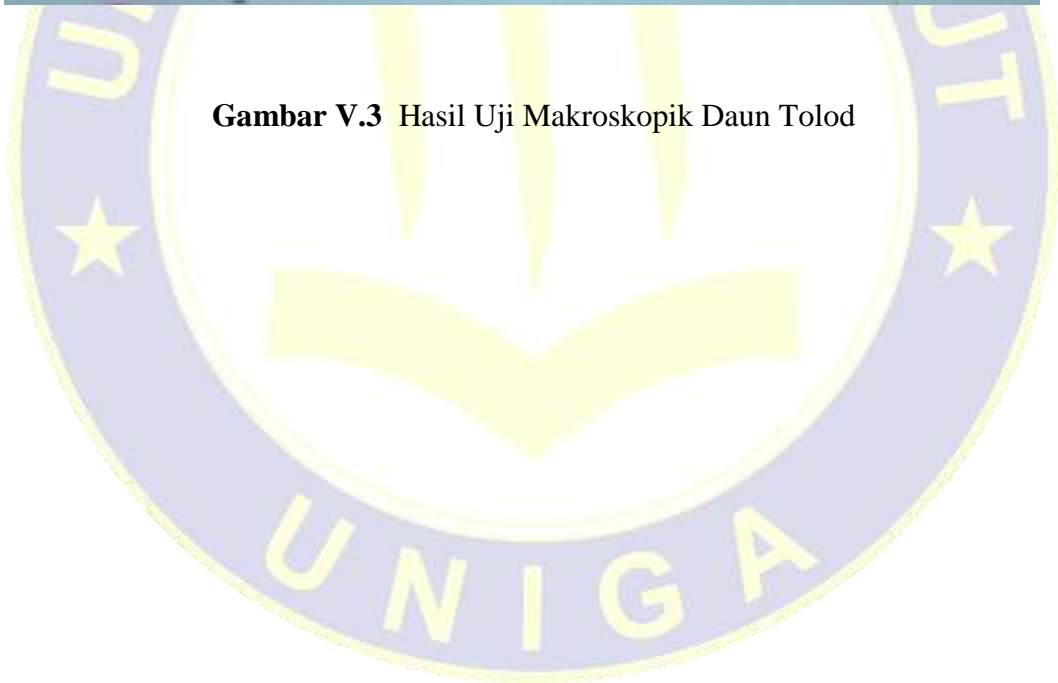


**Gambar V.2** Tumbuhan Daun Tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

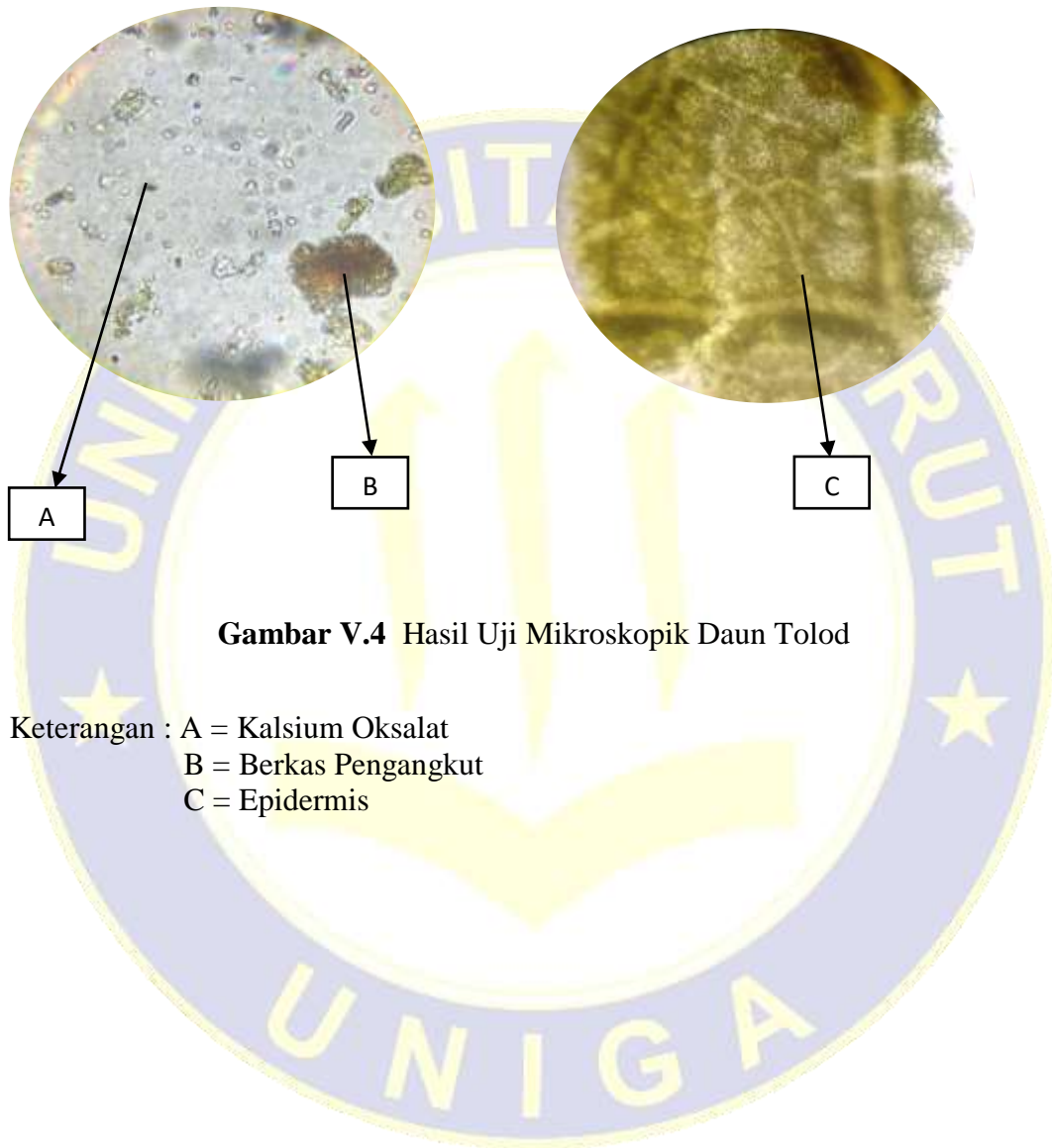
### LAMPIRAN 3 UJI MAKROSKOPIK



**Gambar V.3** Hasil Uji Makroskopik Daun Tolod



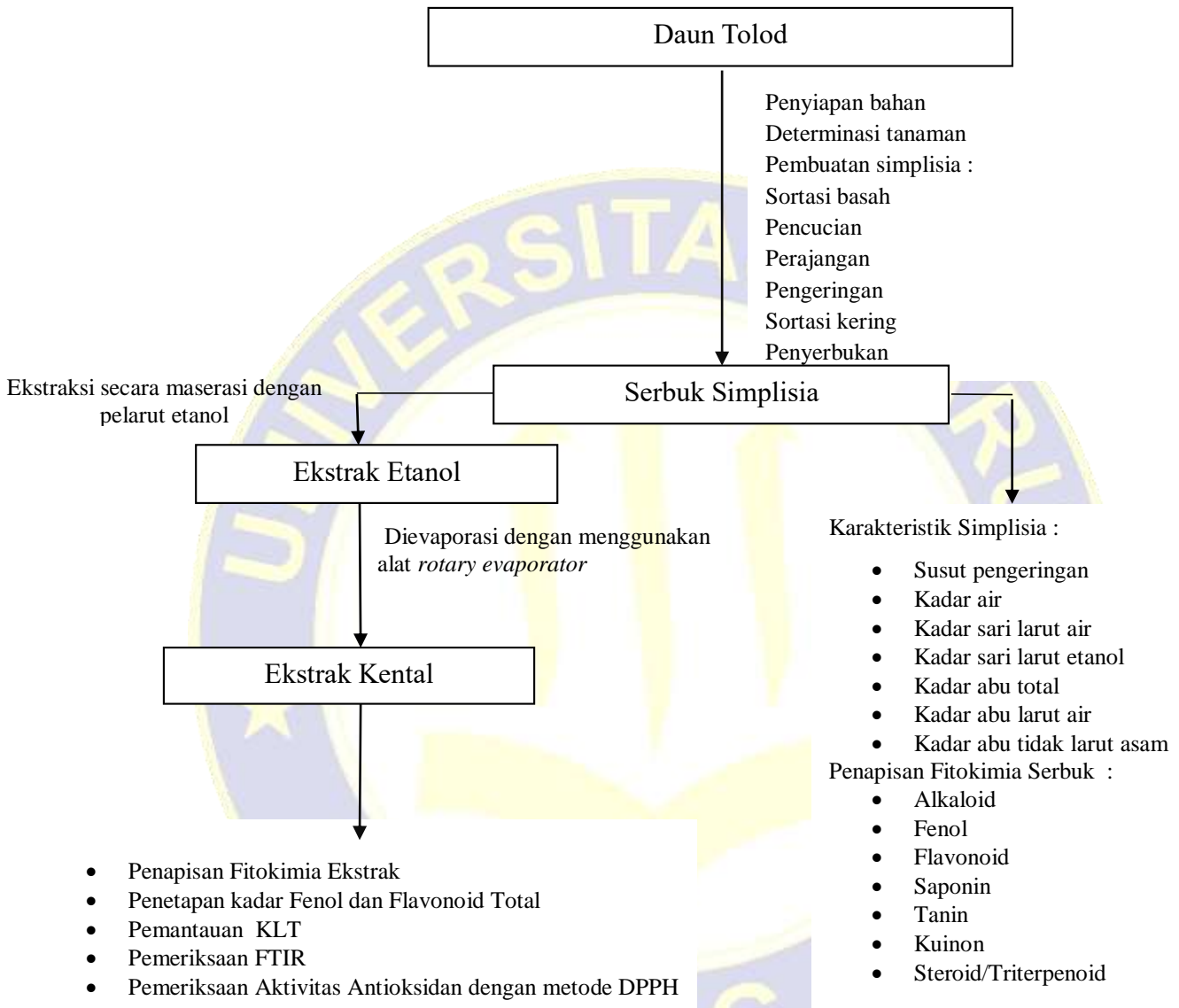
## LAMPIRAN 4 UJI MIKROSKOPIK



**Gambar V.4** Hasil Uji Mikroskopik Daun Tolod

Keterangan : A = Kalsium Oksalat  
B = Berkas Pengangkut  
C = Epidermis

## LAMPIRAN 5 DIAGRAM ALUR PENELITIAN



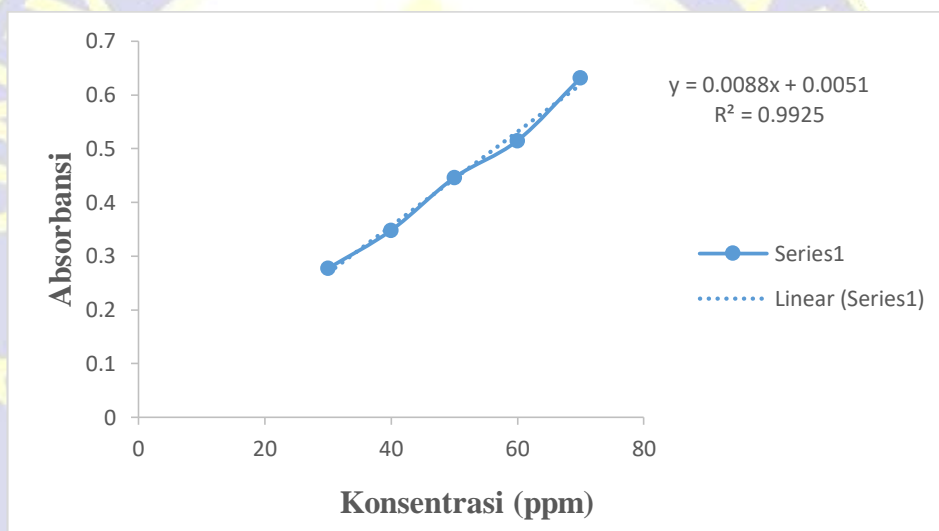
**Gambar V.5** Diagram Alur Penelitian

## LAMPIRAN 6 PENENTUAN KANDUNGAN FENOL TOTAL

### 1. Standar Asam Galat

**Tabel V.4**  
Absorban Standar Asam Galat

Konsentrasi (mg/L)	Absorban
30	0,277
40	0,348
50	0,446
60	0,515
70	0,632



**Gambar V.6** Kurva Kalibrasi Asam Galat

## LAMPIRAN 6 (LANJUTAN)

### 2. Perhitungan Konsentrasi

Rumus :

$$x = \frac{y - a}{b}$$

Keterangan : x = Konsentrasi fenol

y = Absorbansi sampel

a = Intercept (0,0051)

b = Slope (0,0088)

**Tabel V.5**

Perhitungan Konsentrasi Kandungan Fenol Total

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi Fenol Total (mg/L)
Daun tolod	0,362	40,5568
	0,363	40,6704
	0,365	40,8977

Contoh Perhitungan :

$$x = \frac{0,362 - 0,0051}{0,0088}$$

$$x = 40,5568 \text{ mg/L}$$

## LAMPIRAN 6 (LANJUTAN)

3. Perhitungan Kadar Fenol Total  
Rumus :

$$\text{Fenolat Total} = \frac{C.V.fP}{g}$$

Keterangan : C = konsentrasi fenol  
V = volume ekstrak yang digunakan  
Fp = faktor pengenceran  
g = bobot sampel

**Tabel V.6**  
Perhitungan Kadar Fenol Total

Sampel	Konsentrasi Fenol Total (mg/L)	Kadar Fenol Total (mgGAE/g sampel)	Rata-rata Kadar Fenol Total (mgGAE/g sampel)
Daun Tolod	40,5568	40,5568	40,7083
	40,6704	40,6704	
	40,8977	40,8977	

Contoh Perhitungan :

$$\text{Fenolat Total} = \frac{40,5568 \cdot 0,01 \cdot 10}{0,1}$$

$$\text{Fenolat Total} = 40,5568 \text{ mgGAE/g sampel}$$

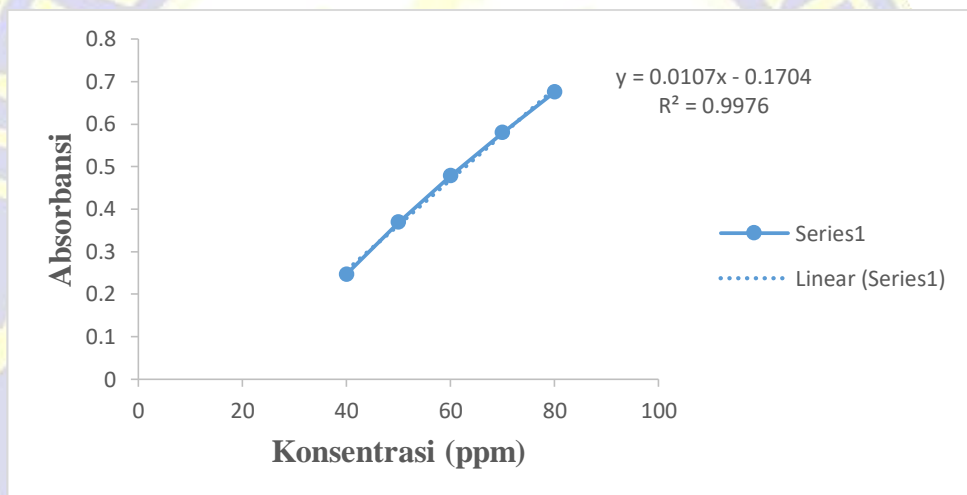
## LAMPIRAN 7

### PENENTUAN KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL

#### 1. Standar Kuersetin

**Tabel V.7**  
Absorban Standar Kuersetin

Konsentrasi (mg/L)	Absorban
40	0,247
50	0,369
60	0,478
70	0,580
80	0,675



**Gambar V.7** Kurva Kalibrasi Kuersetin

## LAMPIRAN 7 (LANJUTAN)

### 2. Perhitungan Konsentrasi

Rumus :

$$x = \frac{y - a}{b}$$

Keterangan : x = Konsentrasi flavonoid

y = Absorbansi sampel

a = Intercept (-0,1704)

b = Slope (0,0107)

**Tabel V.8**  
Perhitungan Konsentrasi Kandungan Flavonoid Total

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi Flavonoid Total (mg/L)
Daun tolod	0,284	42,4672
	0,288	42,8411
	0,289	42,9345

Contoh Perhitungan :

$$x = \frac{0,284 - (-0,1704)}{0,1}$$

$$x = 42,4672 \text{ mg/L}$$

## LAMPIRAN 7 (LANJUTAN)

### 3. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Rumus :

$$\text{Flavonoid Total} = \frac{C.V.fP}{g}$$

Keterangan : C = konsentrasi flavonoid

V = volume ekstrak yang digunakan

Fp = faktor pengenceran

g = bobot sampel

**Tabel V.9**  
Perhitungan Kadar Flavonoid Total

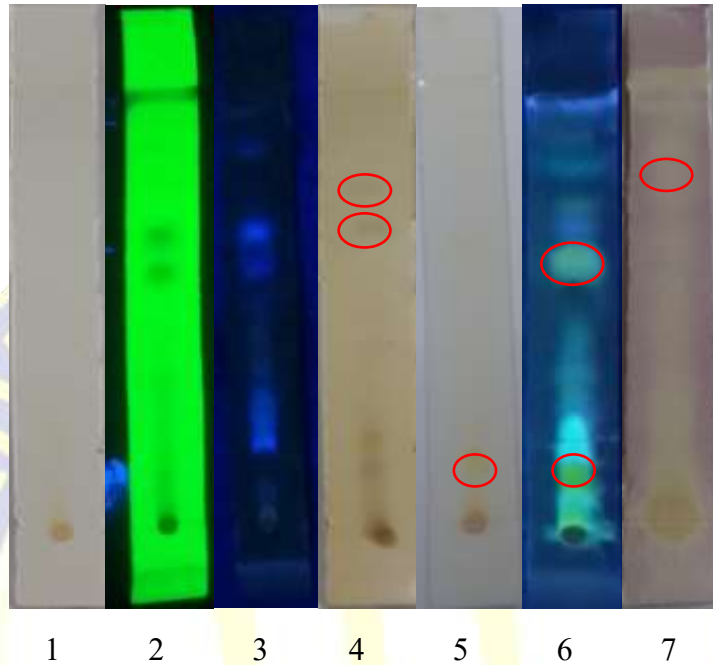
Sampel	Konsentrasi Flavonoid Total (mg/L)	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g sampel)	Rata-rata Kadar Flavonoid Total (mgQE/g sampel)
Daun Tolod	42,4672	21,2336	21,3737
	42,8411	21,4205	
	42,9345	21,4672	

Contoh Perhitungan :

$$\text{Favonoid Total} = \frac{42,4672 \cdot 0,015}{0,1}$$

$$\text{Flavonoid Total} = 21,2336 \text{ mgQE/g sampel}$$

**LAMPIRAN 8**  
**PEMANTAUAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)**



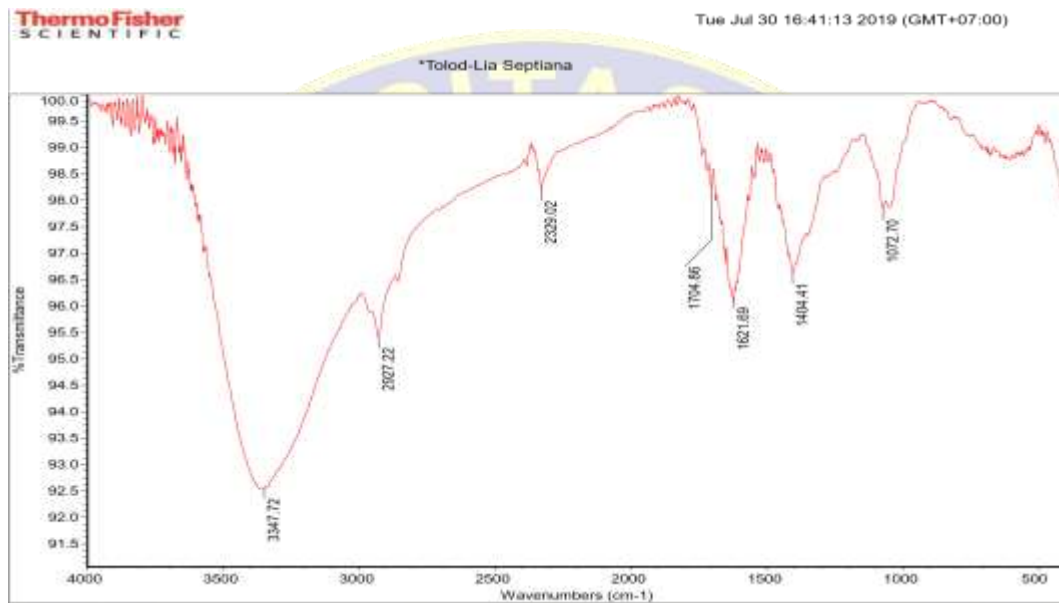
**Gambar V.8** Hasil Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Keterangan :

1. Pada sinar tampak dengan eluen n-heksan : etil asetat (6:4)
2. Di bawah sinar UV 254 nm sebelum disemprot
3. Di bawah sinar UV 366 nm sebelum disemprot
4. Pada sinar tampak setelah disemprot  $\text{FeCl}_3$
5. Pada sinar tampak setelah disemprot Sitoborat
6. Di bawah sinar UV 366 nm setelah disemprot Sitoborat
7. Pada sinar tampak setelah disemprot DPPH

## LAMPIRAN 9

### PEMERIKSAAN SPEKTROSKOPI INFRA MERAH



**Gambar V.9** Hasil Pemeriksaan Spektroskopi Inframerah Daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

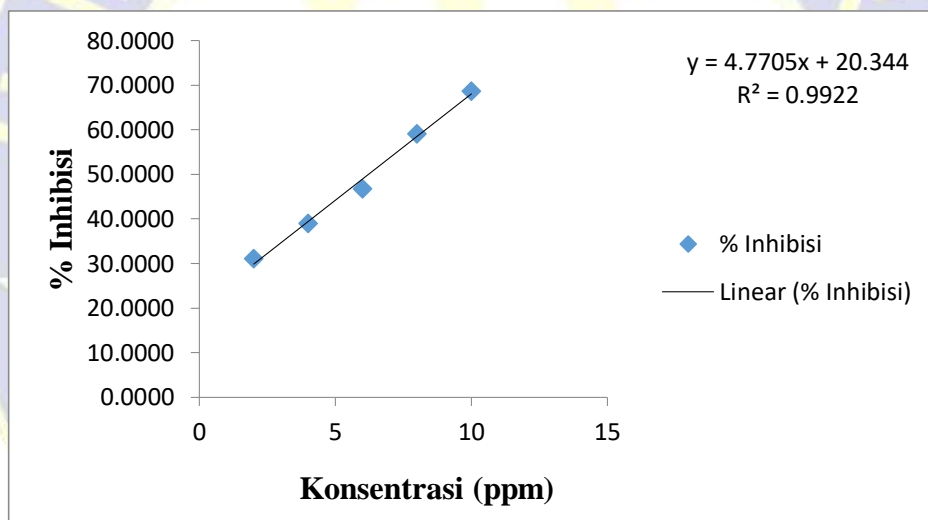
## LAMPIRAN 10

### HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VITAMIN C

**Tabel V.11**

Data aktivitas antioksidan vitamin C terhadap DPPH pada absorbansi 1,104

Kosentrasi Vitamin C (ppm)	Absorban Rata-rata $\pm$ SD	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
2	0,761 $\pm$ 0,009	31,099	6,22 (sangat aktif)
4	0,673 $\pm$ 0,011	39,010	
6	0,587 $\pm$ 0,008	46,830	
8	0,451 $\pm$ 0,003	59,179	
10	0,345 $\pm$ 0,003	68,720	



**Gambar V.10** Kurva Hubungan Konsentrasi Terhadap % Inhibisi Vitamin C

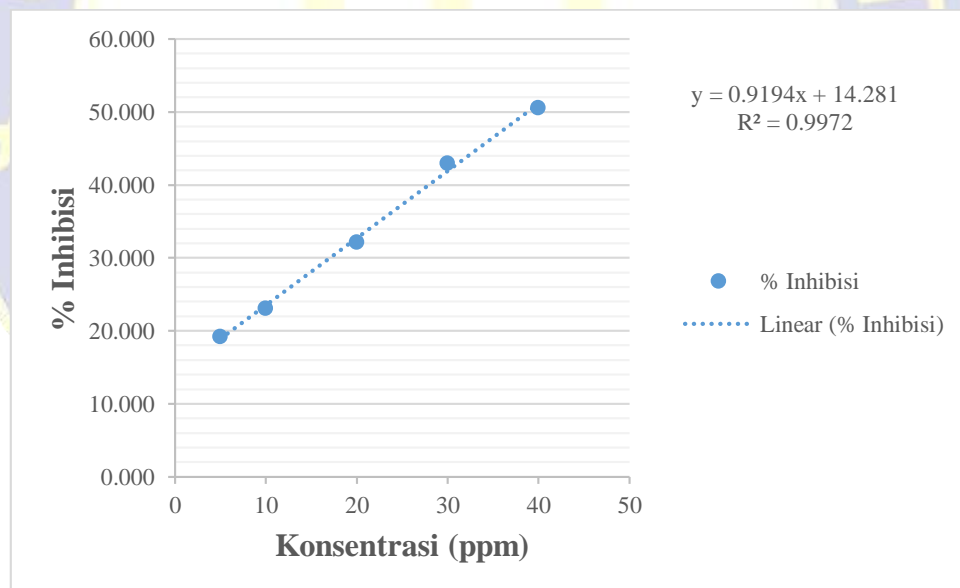
## LAMPIRAN 11

### HASIL PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN TOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

**Tabel V.12**

Data aktivitas antioksidan Ekstrak Daun Tolod  
(*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) terhadap DPPH pada absorbansi 0,836

Kosentrasi (ppm)	Absorban Rata-rata $\pm$ SD	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (ppm)
5	0,675 $\pm$ 0,002	19,219	38,850 ppm (sangat aktif)
10	0,643 $\pm$ 0,001	23,046	
20	0,567 $\pm$ 0,002	32,177	
30	0,477 $\pm$ 0,001	42,943	
40	0,413 $\pm$ 0,003	50,558	



**Gambar V.11** Kurva Hubungan Konsentrasi Terhadap % Inhibisi Ekstrak  
Daun Tolod

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Lia Septiani  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Alamat : Kampung Pawitan RT/RW 03/01, Desa Neglasari,  
Kecamatan Salawu, Kabupaten Tasikmalaya, Provinsi  
Jawa Barat  
Status : Belum Menikah  
No. HP : 089632509424  
Email : liaseptiani121314@gmail.com  
Agama : Islam  
Tempat Tanggal Lahir : Tasikmalaya, 19 September 1996  
Riwayat Pendidikan :  
- Sekolah Dasar (SD) : SDN I NEGLASARI  
- Sekolah Menengah Pertama (SMP) : SMPN I SALAWU  
- Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) : SMK BINA PUTERA  
NUSANTARA TASIKMALAYA  
- Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS GARUT  
FAKULTAS MIPA

**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETERMINATION OF TOTAL PHENOL AND TOTAL FLAVONOID EXTRACT OF LEAF TOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) METHODS WITH DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

**Lia Septiani<sup>1</sup>, Isye Martiani<sup>1</sup>, Farid Perdana<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas MIPA-Universitas Garut, Jl. Jati No.42B, Tarogong, Garut

Lia Septiani (liaseptiani121314@gmail.com)

| Received:

| Revised:

| Accepted:

**Abstract**

*Tolod leaves (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) is the one type of plant that is known to has various medicinal properties including as antioxidant. There are several groups of compounds contained in the (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) species are alkaloids, polyphenols, flavonoids, and saponins. The purpose of this study was to determined the total phenolic compounds and flavonoids, and antioxidant activity of the tolod leaves. This research went through several steps, started from the preparation of the material, phytochemical screening, characterization of simplicia, extraction by maceration method using 96% ethanol solvent, determination of total phenol levels and total flavonoids using the colorimetric method. The FTIR (Fourier Transform Infrared) spectroscopy was examined and further confirmed by thin layer chromatography (TLC) examination. Testing the antioxidant activity measured by UV-VIS spectrophotometer with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and vitamin C as positive control. The results showed that total phenol levels were 40.7083 mg GAE / g extract and total flavonoid levels were 21.3737 mg QE / g extract. Based on TLC examination and FTIR spectroscopy showed that the dominant compound from the ethanol extract of the tolod leaves was a phenol and flavonoid and has active antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 38,850 ppm.*

*Keywords : Tolod leaves, total phenol, total flavonoid, FTIR, antioxidant*

# **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL SERTA FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN TOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl)**

## **Abstrak**

Daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang diketahui memiliki berbagai khasiat untuk pengobatan termasuk sebagai antioksidan. Terdapat beberapa kelompok senyawa yang terkandung dalam spesies (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) yaitu alkaloid, polifenol, flavonoid, dan saponin. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui total senyawa fenol dan flavonoid, serta aktivitas antioksidan dari daun tolod. Penelitian ini melalui beberapa tahapan, yaitu dimulai dari penyiapan bahan, penapisan fitokimia, karakterisasi simplisia, ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, penentuan kadar fenol total dan flavonoid total menggunakan metode kolorimetri. Dilakukan pemeriksaan spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dan dikonfirmasi lebih lanjut dengan pemeriksaan (KLT) kromatografi lapis tipis. Pengujian aktivitas antioksidan yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl) dan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fenol total sebesar 40,7083 mg GAE/g ekstrak dan kadar flavonoid total sebesar 21,3737 mg QE/g ekstrak. Berdasarkan pemeriksaan KLT dan spektroskopi FTIR menunjukkan bahwa senyawa dominan dari ekstrak etanol daun tolod adalah senyawa fenol dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan yang aktif dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 38,850 ppm.

Kata Kunci : Daun tolod, fenol total, flavonoid total, FTIR, antioksidan

---

## **Pendahuluan**

Indonesia sebagai negara agraris mempunyai berbagai macam tumbuhan. Tidak jarang, tanpa disadari ternyata tumbuhan liar yang berada di pekarangan rumah merupakan tumbuhan yang bisa dijadikan obat. Oleh sebab itu, perlu pengetahuan mengenai berbagai macam tanaman yang bisa dijadikan sebagai obat.<sup>1</sup>

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktor. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel akan dihambat.<sup>2</sup>

Salah satu tumbuhan yang mempunyai potensi antioksidan adalah tumbuhan daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don). Beberapa kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan daun tolod adalah senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol.

Daun tolod merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Tumbuhan ini berasal dari Hindia barat, merupakan tumbuhan liar yang bisa tumbuh disela-sela bebatuan yang lembab sehingga sering dianggap sebagai gulma.<sup>3</sup>

## **Metode**

### **Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, corong pisah, gelas kimia, gelas ukur, alumunium foil, labu ukur, kertas saring, tabung reaksi, mikropipet, pipet tetes, corong kaca, kuvet, desikator, cawan krus, oven, erlenmeyer, timbangan analitik, tanur, penangas air, kompor listrik, *rotary evaporator*, plat KLT, pipa kapiler, silika GF<sub>254</sub>, lampu UV 254 nm, lampu UV 366 nm, spektrofotometer UV-Vis dan spektroskopi inframerah.

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don), etanol 96%, metanol p.a, aquadest, HCl, toluen, kloroform, amonia 30%, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, pereaksi Steasny, pereaksi Lieberman-Burchard, FeCl<sub>3</sub> 1%, eter, NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>, natrium asetat, sitoborat, *n*-heksan, etil asetat, vitamin C, dan DPPH.

## **Prosedur Rinci**

### **Pengumpulan Bahan**

Tumbuhan yang akan diteliti yaitu kayu daun tolod yang diambil dari Kampung Pawitan, Desa Neglasari, Kecamatan Salawu, Kabupaten Tasikmalaya, Jawa Barat.

### **Determinasi Bahan**

Determinasi dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Determinasi tumbuhan dilakukan bertujuan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan merupakan suku Campanulaceae.

### **Pengolahan Bahan**

Pengolahan simplisia daun tolod dilakukan melalui beberapa proses, dimulai dari sortasi basah yang dilakukan untuk memisahkan pengotor atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia, kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan pengotor dan debu yang menempel, lalu dirajang dan dikeringkan. Lalu dilakukan sortasi kering untuk memisahkan dari benda-benda asing atau pengotor yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Daun tolod yang sudah kering kemudian diserbukkan.<sup>4</sup>

## **Pengolahan Ekstrak**

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Ditimbang dengan seksama sebanyak 400 gram simplisia, kemudian menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan pada suhu kamar agar terhindar dari cahaya. Proses maserasi dilakukan selama 3×24 jam dengan mengganti pelarut setiap 1×24 jam sekali. Maserat yang dihasilkan dikumpulkan kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

## **Penapisan Fitokimia**

Meliputi pemeriksaan terhadap senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, kuinon, steroid, dan triterpenoid.<sup>5</sup>

## **Pemeriksaan Karakteristik Simplisia**

Meliputi penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar sari larut air, dan penetapan kadar sari larut etanol.<sup>6,7</sup>

## **Pemantauan Pola Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Dilakukan pemantauan pola KLT dari ekstrak etanol daun tolod. Identifikasi dengan KLT digunakan plat silika GF<sub>254</sub>. Disiapkan masing-masing plat dengan ukuran 1x8 cm<sup>2</sup>. Ekstrak etanol daun tolod ditotolkan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Setelah itu dilanjutkan dengan pemantauan di sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm.<sup>8</sup>

## **Pemeriksaan Spektrum Inframerah**

Pemeriksaan spektrum inframerah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun tolod menggunakan spektroskopi inframerah, dengan cara menggerus sedikit sampel dan KBr sampai homogen. Kemudian ditekan dengan menggunakan alat *mini-press* dan dihasilkan lempeng transparan lalu dilakukan pengukuran.

## **Penetapan Kadar Fenol Total**

## **Pembuatan Larutan Standar Asam Galat**

Pembuatan larutan standar asam galat 1000 ppm yaitu dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 10 mg asam galat, kemudian dilarutkan ke dalam metanol hingga volume 10 mL. Larutan tersebut kemudian dibuat seri pengenceran 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm.<sup>9</sup>

## **Pengukuran Larutan Standar Asam Galat**

Masing-masing terhadap seri konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm ditambahkan pereaksi Folin-Ciocalteu sebanyak 0,4 mL, kemudian dikocok hingga

homogen lalu didiamkan selama 4-8 menit kemudian ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% sebanyak 4 mL, dikocok sampai homogen, kemudian ditambahkan 10 mL aquabidestilata dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 700-800 nm untuk penentuan panjang gelombang maksimum. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.<sup>9</sup>

### **Penentuan Kandungan Fenol Total Pada Ekstrak**

Penentuan kadar fenol total terhadap ekstrak etanol daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak, kemudian ditambahkan 10 mL etanol. Dipipet sebanyak 1 mL larutan ekstrak etanol daun tolod dan ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 0,4 mL kemudian dikocok. Didiamkan larutan tersebut selama 4-8 menit kemudian ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan aquabidestilata sampai 10 mL, kemudian didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 678 nm. Dilakukan tiga kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/gram ekstrak.<sup>9</sup>

### **Penetapan Kadar Flavonoid Total**

#### **Pembuatan Larutan Standar Kuersetin**

Ditimbang sebanyak 10 mg kuersetin, kemudian dilarutkan ke dalam metanol p.a sebanyak 10 mL untuk 1000 ppm. Larutan standar tersebut dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 40, 50, 60, 70, dan 80 ppm. Terhadap masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan 8 mL asam asetat 5% lalu ditambahkan 10 mL metanol. Campuran larutan tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 411 nm.<sup>9</sup>

#### **Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak**

Ditimbang dengan seksama kurang lebih 100 mg ekstrak etanol daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don), kemudian dilarutkan ke dalam metanol p.a sebanyak 10 mL. Larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 0,2 mL asam asetat 5%, kemudian ditambahkan 10 mL aquabidestillata. Campuran larutan tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS menggunakan panjang gelombang 411 nm.<sup>9</sup>

### **Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

#### **Pembuatan larutan sampel**

Ekstrak ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok tersebut dibuat seri larutan standar 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm.<sup>10</sup>

### **Pembuatan Larutan Vitamin C**

Larutan vitamin C sebagai kontrol positif dibuat dengan cara ditimbang 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 100 ppm. Larutan stok tersebut kemudian dibuat seri larutan standar dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.<sup>10</sup>

### **Penyiapan Larutan DPPH**

Ditimbang 5 mg serbuk DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi 100 ppm. Dari konsentrasi larutan 100 ppm diencerkan menjadi 25 ppm.

### **Penetapan IC<sub>50</sub> dengan metode DPPH**

Sebanyak 1 mL pada masing-masing seri konsentrasi yang dibuat pada vitamin C ditambah dengan 2 mL larutan DPPH, larutan yang sudah dicampurkan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-VIS. Ekstrak etanol daun tolod sebanyak 1 mL pada masing-masing seri konsentrasi ditambah 2 mL larutan DPPH, kemudian ditambahkan 1 mL metanol p.a dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Setelah itu didapat nilai absorban dihitung % inhibisi dengan rumus :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Dari % inhibisi yang diperoleh, kemudian ditentukan nilai IC<sub>50</sub> yang menyatakan besarnya konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%.<sup>10</sup> Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dari kurva regresi linier antara % inhibisi dengan konsentrasi.

### **Hasil dan Pembahasan**

Dalam penelitian ini, bagian tumbuhan yang digunakan adalah daun dari tumbuhan daun tolod yang diperoleh dari kampung Pawitan, desa Neglasari, kecamatan Salawu, kabupaten Tasikmalaya. Dalam memastikan identitas dari tumbuhan yang digunakan maka dilakukan determinasi tumbuhan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institusi Teknologi Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) dari suku Campanulaceae.

Penyiapan sampel dimulai dari pengumpulan daun tolod sebanyak 3 kg, kemudian dilakukan pengolahan bahan menjadi simplisia yang meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penggilingan agar menjadi serbuk. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan pengotor dari bahan. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan debu dan pengotor lainnya yang melekat pada simplisia. Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan metode pemanasan menggunakan lemari pengering dengan suhu di bawah 60°C, tujuannya untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Sortasi kering dilakukan bertujuan untuk memastikan bahan sudah bersih dari pengotor.

Penggilingan simplisia menjadi serbuk bertujuan agar pada saat proses maserasi senyawa metabolit sekunder yang tertarik oleh pelarut yang digunakan dapat tertarik secara maksimal dan memudahkan pada proses penyaringan. Penyimpanan simplisia ditempatkan dalam suatu wadah tertutup rapat yang bersih sehingga tidak berpengaruh terhadap kandungan zat yang terdapat dalam simplisia.

Simplisia daun tolod dilakukan pengujian makroskopik dengan mengamati bentuk dari daun tolod yang bertujuan untuk menentukan ciri khas dari tumbuhan dengan pengamatan secara langsung dari tumbuhan segar. Hasil pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada tabel V.1

**Tabel V.1**  
Hasil Pemeriksaan Makroskopik Simplisia Daun Tolod  
(*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

Parameter	Hasil
Bentuk	Daun tunggal meruncing dengan tepi bergerigi
Warna	Hijau
Bau	Khas
Rasa	Pahit
Ukuran	14 cm x 3,5 cm

Dilakukan pemeriksaan karakteristik terhadap serbuk simplisia daun tolod. Pemeriksaan karakteristik meliputi penetapan kadar air, susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu larut air, dan kadar abu tidak larut asam. Hasil pemeriksaan karakteristik dapat dilihat pada tabel V.2

**Tabel V.2**  
Hasil Pemeriksaan Karakteristik Daun Tolod  
(*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

No	Pengujian	Hasil pengujian (%) b/b
1	Kadar air	5,33*
2	Susut pengeringan	6,22
3	Kadar sari larut air	19,19
4	Kadar sari larut etanol	14,57
5	Kadar abu total	7,36
6	Kadar abu larut air	3,03
7	Kadar abu tidak larut asam	0,90

Keterangan : \* = v/b

Tabel di atas menunjukkan hasil pemeriksaan karakteristik simplisia yang dilakukan lalu dibandingkan dengan pustaka, agar diketahui bahwa simplisia termasuk ke dalam kriteria aman atau tidak. Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam simplisia daun tolod sehingga menentukan kualitas simplisia untuk disimpan dalam jangka waktu yang lama. Metode yang digunakan pada penetapan kadar air yaitu destilasi toluen. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan diperoleh nilai kadar air sebesar 5,33%, hal ini sesuai dengan persyaratan mutu bahan baku obat yaitu harus  $\leq 10\%$ . Kadar air tidak boleh melebihi 10% hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya pertumbuhan mikroba dengan cepat.<sup>11</sup>

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil pengujian susut pengeringan yang diperoleh yaitu 6,22%. Susut pengeringan hasilnya lebih tinggi dari kadar air karena dilakukan pada suhu 105°C sehingga tidak hanya air yang ikut menguap tetapi juga senyawa lain yang mudah menguap.

Penetapan kadar sari meliputi kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Pengujian ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang dapat tersari dalam pelarut air dan etanol dari simplisia. Hasil penetapan kadar sari larut air yaitu sebesar 19,19% dan penetapan kadar sari larut etanol yaitu sebesar 14,57%. Hasil pengujian diperoleh kadar sari larut air lebih banyak dibandingkan dengan kadar sari larut etanol. Hal ini menunjukkan bahwa pada tumbuhan daun tolod lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar yang larut dalam air dibandingkan dengan senyawa yang bersifat non polar dan semi polar.

Penetapan kadar abu meliputi kadar abu total, kadar abu larut air dan kadar abu tidak larut asam. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral keseluruhan baik internal maupun eksternal dari simplisia. Hasil pengujian kadar abu total yaitu 7,36%. Kadar abu larut air bertujuan untuk memberikan gambaran jumlah kandungan logam fisiologis yang berasal dari tumbuhan itu sendiri. Hasil pengujian kadar abu larut air yaitu 3,03%. Kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral eksternal yang terdapat pada simplisia. Hasil pengujian kadar abu tidak larut asam yaitu 0,90%.

Penapisan fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa metabolit sekunder. Penapisan fitokimia pada penelitian ini dilakukan pada serbuk simplisia dan ekstrak untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari daun tolod. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel V.3

**Tabel V.3**

Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Tolod  
(*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

No	Kandungan kimia	Hasil Pengamatan	
		Simplisia	Ekstrak
1	Alkaloid	+	+
2	Fenol	+	+
3	Flavonoid	+	+
4	Tanin	+	+

5	Saponin	+	+
6	Kuinon	-	-
7	Steroid/Triterpenoid	-	-

Keterangan : (+) = terdeteksi  
 (-) = tidak terdeteksi

Serbuk simplisia daun tolod selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi. Ekstraksi ini bertujuan untuk menarik metabolit sekunder dari serbuk simplisia. Metode maserasi dipilih karena kandungan kimia dari bahan belum diketahui tahan pemanasan atau tidak, sehingga digunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% karena merupakan pelarut universal yang diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar, dan non polar. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 300 gram serbuk simplisia direndam dalam pelarut etanol 96% selama  $3 \times 24$  jam dan setiap  $1 \times 24$  jam pelarut etanol 96% diganti dengan yang baru. Pergantian pelarut setiap 24 jam dilakukan karena pelarut yang telah jenuh tidak akan menarik komponen fitokimia lagi. Hasil maserasi dievaporasi dengan alat *rotary evaporator* yang bertujuan untuk menguapkan pelarut pada ekstrak dan mendapatkan ekstrak kental. Proses pengentalan ekstrak dilakukan pada suhu kurang dari  $60^{\circ}\text{C}$ . Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Ekstrak etanol daun tolod yang diperoleh yaitu 21,29 gram dan rendemen yang diperoleh yaitu 7,09%.

Penentuan kadar fenol total dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah dari keseluruhan golongan senyawa fenol dari ekstrak daun tolod. Kadar fenol total dari sampel ditetapkan dengan spektrofotometer menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Prinsip pengukuran kandungan fenol total dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, yaitu setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk. Sebagai standar pengukuran digunakan asam galat dikarenakan asam galat merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana, stabil, serta relatif murah.<sup>9,12</sup>

Pada pengukuran panjang gelombang maksimal hasil yang diperoleh pada panjang gelombang yang memberikan serapan tertinggi adalah 678 nm dengan absorbansi 0,415. Penentuan kandungan fenol total dilakukan dengan cara membuat kurva standar asam galat sebagai pembanding ekuivalen terhadap senyawa fenol dalam ekstrak etanol daun tolod, dengan adanya kurva tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar fenol total.

Diperoleh persamaan regresi linier standar asam galat  $y = 0,0088x + 0,0051$ , dimana (y) merupakan absorbansi sampel dengan koefisien korelasi ( $r^2$ ) yang dihasilkan sebesar 0,9925. Kandungan fenol total dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE atau *Gallic Acid Equivalent* yaitu jumlah dari kesetaraan miligram dari standar asam galat dalam 1 gram sampel. Hasil pengujian kadar fenol total ekstrak etanol daun tolod yaitu 40,7083 mg GAE/g ekstrak. Hasil penetapan kadar fenol total yaitu sebagai berikut :

### Perhitungan Kadar Fenol Total

Sampel	Konsentrasi Fenol Total (mg/L)	Kadar Fenol Total (mgGAE/g sampel)	Rata-rata Kadar Fenol Total (mgGAE/g sampel)
Daun Tolod	40,5568	40,5568	40,7083
	40,6704	40,6704	
	40,8977	40,8977	

Pada penentuan kadar flavonoid digunakan kuersetin sebagai standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonolol yang dapat membentuk kompleks dengan  $AlCl_3$ . Pengukuran dilakukan dengan penambahan  $AlCl_3$  yang akan membentuk ikatan kompleks, yaitu dengan gugus hidroksil dari senyawa flavonoid. Pada pengukuran panjang gelombang maksimal diperoleh panjang gelombang yang memberikan serapan tertinggi yaitu sebesar 411 nm dengan absorbansi yang diperoleh sebesar 0,442. Penentuan kandungan flavonoid total dilakukan dengan cara membuat kurva standar kuersetin sebagai pembanding senyawa flavonoid yang terdapat dalam sampel, dengan demikian kurva tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total.

Diperoleh persamaan regresi linier standar kuersetin  $y = 0,0107x - 0,1704$ , dimana (y) merupakan absorbansi sampel dengan koefisien korelasi ( $r^2$ ) yang diperoleh sebesar 0,9976. Kandungan flavonoid total dalam tumbuhan dinyatakan dalam QE (*Quersetin Equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan miligram dari standar kuersetin dalam 1 gram sampel. Hasil pengujian kadar flavonoid total ekstrak etanol daun tolod yaitu 21,3737 mg QE/g ekstrak. Hasil penetapan kadar flavonoid total yaitu sebagai berikut :

### Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Sampel	Konsentrasi Flavonoid Total (mg/L)	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g sampel)	Rata-rata Kadar Flavonoid Total (mgQE/g sampel)
Daun Tolod	42,4672	21,2336	21,3737
	42,8411	21,4205	
	42,9345	21,4672	

Ekstrak kental daun tolod kemudian dilakukan pemeriksaan senyawa yang terkandung dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis merupakan pemisahan komponen berdasarkan prinsip adsorpsi, partisi, ataupun keduanya yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak .<sup>16</sup> Analisis KLT pada ekstrak etanol daun tolod dilakukan dengan menotolkannya pada plat KLT yang dikembangkan dengan menggunakan fase gerak *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>. Mekanisme kerja yang terjadi pada proses KLT adalah adsorpsi. Hasil yang didapatkan

kemudian dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Analisis KLT ekstrak etanol daun tolod menggunakan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$ , Sitoborat, dan DPPH.

Penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  digunakan sebagai penampak bercak spesifik untuk melihat keberadaan senyawa fenol yang ditandai dengan adanya bercak berwarna hitam. Hasil yang didapatkan setelah disemprot penampak bercak spesifik  $\text{FeCl}_3$ , kemudian dilihat dibawah sinar tampak memperlihatkan adanya dua spot noda berwarna hitam yang menunjukkan senyawa fenol dengan nilai  $R_f$  0,67 dan 0,75.

Penampak bercak sitoborat digunakan sebagai penampak bercak spesifik untuk melihat keberadaan senyawa flavonoid, yang ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning kehijauan. Hasil yang didapatkan setelah disemprot penampak bercak spesifik sitoborat, kemudian dilihat dibawah sinar tampak memperlihatkan adanya satu noda berwarna kuning kehijauan yang menunjukkan senyawa flavonoid dengan nilai  $R_f$  0,16. Dilihat dibawah sinar UV 366 nm memperlihatkan adanya dua spot noda berwarna kuning kehijauan dengan nilai  $R_f$  0,16 dan 0,58.

Penampak bercak DPPH digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan dari sampel daun tolod. Pada spot noda yang memiliki aktivitas antioksidan akan berwarna kuning dengan latar berwarna ungu. Hal tersebut menunjukkan adanya penghambatan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan. Hasil yang diperoleh dengan penampak bercak DPPH memperlihatkan adanya spot noda berwarna kuning dengan latar berwarna ungu dengan nilai  $R_f$  0,7.

Senyawa dalam sampel ekstrak etanol daun tolod yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah fenol serta flavonoid dan untuk memastikan senyawa tersebut dilakukan pemeriksaan lain menggunakan spektroskopi IR sedangkan untuk membuktikan aktivitasnya dilakukan pengujian dengan metode DPPH dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS.

Pemeriksaan spektrum inframerah pada ekstrak daun tolod bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari senyawa yang terdapat pada ekstrak daun tolod. Hasil pemeriksaan spektroskopi IR dapat dilihat pada tabel V.10

**Tabel V.10**  
Prediksi Gugus Fungsi Ekstrak Daun Tolod  
(*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don)

Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus Fungsi	Intensitas	Bentuk pita
3347,72	O-H	Kuat	Lebar
2927,32	C-H	Kuat	Tajam
1704,86	C=O	Kuat	Tajam
1621,69	C=C	Sedang	Tajam
1404,41	C-H	Sedang	Tajam
1072,70	C-O	Sedang	Tajam

Berdasarkan interpretasi pada tabel diketahui beberapa serapan yang khas. Hasil yang diperoleh pada pemeriksaan spektrum inframerah menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun tolod teridentifikasi gugus fungsi O-H pada bilangan gelombang  $3347,72 \text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan lebar dengan serapan yang kuat, gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang  $2927,32 \text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan tajam dengan serapan yang kuat, kemudian gugus fungsi C=O pada bilangan

gelombang  $1704,86\text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan tajam dengan serapan yang kuat, gugus fungsi C=C pada bilangan gelombang  $1621,69\text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan tajam dengan serapan yang sedang, kemudian gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang  $1404,41\text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan tajam dengan serapan yang sedang, gugus fungsi C-O pada bilangan gelombang  $1072,70\text{ cm}^{-1}$  puncak yang dihasilkan tajam dengan serapan yang sedang. Beberapa studi literatur menunjukkan bahwa spektrum-spektrum seperti uraian diatas diduga spektrum dari senyawa fenol dan flavonoid.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanol daun tolod dengan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil*) yang dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Untuk penentuan kemampuan aktivitas antioksidan ditentukan oleh nilai *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ). Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang menghambat 50% radikal bebas, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin kuat daya antioksidannya.

Pengukuran aktivitas antioksidan daun tolod dilakukan pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH berdasarkan hasil *scanning* DPPH. Dalam pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tolod mengakibatkan perubahan warna ungu pada larutan DPPH menjadi warna kuning. Perubahan warna tersebut mempengaruhi nilai absorbansi DPPH. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin rendah nilai absorbansi larutan DPPH. Perubahan warna ini terjadi karena adanya senyawa yang memberikan atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil.

Sebagai pembanding digunakan vitamin C, karena vitamin C dapat larut dalam pelarut polar dan senyawa yang terdapat pada vitamin C ini mempunyai kemampuan menangkal radikal bebas sangat baik dan banyak digunakan oleh para peneliti sebagai kontrol positif pada senyawa-senyawa lain khususnya pada uji aktivitas antioksidan.

Penggunaan pembanding vitamin C bertujuan untuk memastikan metode yang digunakan dapat mengukur kemampuan vitamin C dalam menangkal radikal bebas, sehingga metode ini dapat digunakan pada ekstrak etanol daun tolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don). Nilai  $IC_{50} < 50$  ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat aktif, nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan aktif, nilai  $IC_{50}$  101-250 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, kemudian nilai  $IC_{50}$  250-500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan lemah, dan nilai  $IC_{50} > 500$  ppm menunjukkan kekuatan antioksidan tidak aktif.<sup>23</sup>

Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 6,22 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat aktif. Sedangkan untuk pengujian ekstrak daun tolod memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 38,850 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat aktif.

## Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa pemeriksaan kadar senyawa fenol total dan flavonoid total terhadap ekstrak etanol daun tolod yaitu 40,7083 mg GAE/g ekstrak dan 21,3737 mg QE/g ekstrak. Berdasarkan hasil pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan spektroskopi inframerah (IR) menunjukkan adanya senyawa fenol serta flavonoid dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang didapat sebesar 38,850 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat aktif.

## Daftar Pustaka

1. Murty TK, Asri PP. 101 Ramuan Tradisional Untuk Mengatasi Berbagai Penyakit. Yogyakarta. PT Pustaka Insan Mandiri. 2010.
2. Winarsy H. Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: PT Kanisius. 2007.
3. Arifin H, Alwi TI, Aisyahharma O, Juwita DA. Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L) Pada Mencit Putih Jantan. Jurnal Sains Farmasi & Klinis. 2018. 41-42p.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan .1985. 1-15p.
5. Djamil R, Anelia T. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2009. 66-68p.
6. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia. 1 st ed. Jakarta, 2013. 90-102p.
7. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia. 1 st ed. Jakarta, 2013. 90-102p.
8. Fajriaty I, IH Hariyanto, Andres, Setyaningrum R. Skrinning fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol daun bintangur. Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains. 2018.
9. Wahdaningsih S, Wahyuno S, Riyanto S, Murwanti R. Penetapan kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Fraksi Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyhizus*). Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat. 2017;6(3).
10. Yuslianti E, Faramayuda F, Juliastuti H, Rakhmat I, Handayani D. Prinsip Dasar Pemeriksaan Radikal Bebas & Antioksidan. Yogyakarta. 2018. 23-25p.
11. BPOM. Peraturan Kepala Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 2014. 11p.
12. Ahmad AR, Juwita, Siti ADR. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala. Pharm Sci Res. 2015; 2(1). 3-4p