

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH**

Karya Tulis Ilmiah



Disusun oleh:
Roro Sadiyah
2011067007

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI
AKADEMI FARMASI INDONESIA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2023**

**HALAMAN PENGESAHAN
KARYA TULIS ILMIAH**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH**

Disusun Oleh
Roro Sadiyah
2011067007

Karya Tulis Ilmiah ini telah memenuhi salah satu persyaratan untuk mencapai
gelar Ahli Madya Farmasi

Telah diujikan di depan Penguji Karya Tulis Ilmiah
AKADEMI FARMASI INDONESIA YOGYAKARTA
Pada Tanggal: 13 Juli 2023

Mengetahui,

Pembimbing

apt. Erma Yunita, M.Sc.
NIDN.0526079101

Direktur



apt. Erma Yunita, M.Sc.
NTY.026071991078

Tim Penguji

Ketua Penguji : apt. Andi Wijaya, S. Far., M. Farm. (.....)

Anggota Penguji I : apt. Erma Yunita, M. Sc. (.....)

Anggota Penguji II : apt. Dian Ratna Rianti, M. Sc. (.....)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan kepada semua yang telah kebersamai perjuangan selama penyusunan, dan syukur alhamdulillah tanpa mengurangi rasa hormat saya ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Terimakasih kepada kedua orang tua saya, Bapak Mistam Sumiarto dan Ibu wasem yang selalu memberikan dukungan, semangat dan doanya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Kepada kakak saya Mas Maud, Mas Ono dan adik saya tercinta Husnul Khotimah yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada saya.
3. Kepada keluarga besar yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doanya kepada saya.
4. Terimakasih kepada Ibu Erma Yunita, M.Sc. yang telah membimbing saya dengan penuh kesabaran dalam pembuatan Karya Tulis Ilmiah ini hingga tahap akhir.
5. Kepada teman-teman saya dan patner sambat KTI Sausan Nabila R, Rista Nur A, Mba Dharu A, Mba Amara N, Clara, Alfina, Mba Marita F, Mba Fitri, Mba Novi, Aisyah.
6. Kepada sahabat saya Ari Tri Utami, Sujiani, Putri Rovika D, Dwi Septiyaningsih dan Titin Juniati yang telah memberikan semangat dan selalu mendengarkan semua keluhan yang dirasa.
7. Kepada pemilik NIM 2102010078 yang telah memberikan semangat dan dukungannya kepada penulis. Terimakasih telah menjadi bagian dari perjalanan penulis bisa sampai di titik ini.
8. Kepada adik-adik tercinta Hasna dan Mega yang sudah ikut membantu dan memberikan semangat.
9. Terimakasih kepada diri saya yang sudah mau berjuang dan selalu berusaha untuk semangat "kamu hebat sudah sampai di titik ini!".
10. Kepada teman-teman seperjuangan kelas A Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta tercinta.

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Roro Sadiyah

NIM : 2011067007

Judul Penelitian : Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Salam
(*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa penelitian ini adalah hasil karya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya tidak bersifat materi yang dipublikasikan atau ditulis oleh orang lain atau digunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain, kecuali pada bagian-bagian tertentu yang saya ambil sebagai acuan. Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya.

Yogyakarta, 13 Juli 2023
Yang menyatakan



Roro Sadiyah
NIM.2011067007

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah serta karunia-Nya. Tidak lupa juga sholawat serta salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW dan para sahabat-sahabatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH” dengan tepat waktu. Karya Tulis Ilmiah ini digunakan sebagai salah satu syarat guna mencapai gelar Ahli Madya Farmasi Program Studi Diploma III Farmasi di Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta. Penulis ucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu apt. Erma Yunita, M.Sc., selaku direktur Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta sekaligus dosen pembimbing Karya Tulis ilmiah dan dosen wali atas segala motivasi, arahan, waktu dan bimbingan dalam proses perjalanan penyusunan Karya Tulis Ilmiah dari awal hingga akhir
2. Bapak apt. Andi Wijaya, S.Far., M.Farm. selaku dosen penguji atas segala motivasi, waktu, saran serta arahan yang telah diberikan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah
3. Ibu apt. Dian Ratna Rianti, M.Sc., sebagai dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah
4. Kedua orang tua saya yang telah mendoakan dan mendukung saya dalam proses penulisan Karya Tulis Ilmiah
5. Teman-teman yang senantiasa memberikan dukungan untuk kelancaran penyusunan karya tulis ini dan semua pihak yang membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan dan belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan yang membangun untuk menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah. Akhir kata, semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat untuk pembaca.

Yogyakarta, 13 Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI.....	xi
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Kajian Teori	4
1. Tanaman Salam	4
2. Antioksidan	6
3. DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil).....	7
4. Spektrofotometer UV-Vis	9
B. Kerangka Berfikir.....	13
C. Hipotesa.....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
A. Rancangan Penrelitian.....	14
B. Tempat dan Waktu	14
C. Sampel Penelitian.....	14
D. Instrumen Penelitian.....	14
1. Alat	14
2. Bahan.....	15
E. Variabel Operasional.....	15
1. Variabel Bebas	15
2. Variabel Terikat.....	15
3. Variabel Terkendali	15
F. Definisi Operasional.....	15
G. Pengumpulan Data	16
H. Teknik Pengumpulan Data	16
1. Pembuatan Serbuk Kasar Daun Salam	16
2. Pembuatan Sempel Seduhan Daun Salam.....	16
3. Pembuatan Larutan DPPH.....	17
4. Pembuatan Larutan Stok Sampel	17
5. Pembuatan Larutan Pembanding	17

6. Pengukuran Antioksidan Blanko	17
7. Pengukuran Seduhan Daun Salam	18
8. Pengukuran Kuersetin Sebagai Pembanding.....	18
I. Analisa Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	27
A. Kesimpulan	27
B. Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28

DAFTAR TABEL

Tabel I. Kategori Nilai IC_{50}	19
Tabel II. Nilai Persen Inhibisi Seduhan Daun Salam dan Kuersetin	24
Tabel III. Nilai IC_{50} Seduhan Daun Salam dan Kuersetin	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Salam	5
Gambar 2. Struktur DPPH.....	8
Gambar 3. Reaksi yang Terjadi antara Radikal Bebas dan.....	9
Gambar 4. Bagian bagian Spektrofotometer UV-Vis	11
Gambar 5. Skema Alur Kerangka Berfikir	13
Gambar 6. Pengukuran panjang gelombang maksimal larutan DPPH	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian.....	32
Lampiran 2. Surat Pembelian Simplisia.....	33
Lampiran 3. Perhitungan Larutan	34
Lampiran 4. Dokumentasi Tahapan Perlakuan	39
Lampiran 5. Perubahan Warna Larutan DPPH dengan Sampel	41
Lampiran 6. Pengukuran Panjang Golombang Maksimal Larutan DPPH.....	41
Lampiran 7. Data Absorbansi, Persen Inhibisi, IC_{50} Beserta Grafiknya.....	42
Lampiran 8. Data Perhitungan Rata-rata % Inhibisi	46
Lampiran 9. Analisis Data.....	46
Lampiran 10. Naskah Publikasi	47

DAFTAR SINGKATAN

BHA	: <i>Buthylated Hidroksianisol</i>
BHT	: <i>Buthylatedhydroxytoluene</i>
cm	: Sentimeter
DPPH	: <i>1,1-diphenyl-2- picryl hydrazyl</i>
FIC	: <i>Ferrous Ion Chelating</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50</i>
ml	: Milimeter
μl	: Mikroliter
ppm	: Part Per Million
SDS	: Seduhan Daun Salam
TBHQ	: <i>Ters-Buthyl Hidroquinone</i>
UV-Vis	: Ultra Violet-Visible

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH

INTISARI

Daun salam memiliki kandungan kimia yaitu minyak atsiri, flavonoid, tanin dan metil kavicol (estragole), senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari seduhan daun salam.

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) secara spektrofotometri UV-Vis. Sampel yang diuji berupa serbuk sangat kasar simplisia daun salam yang dipreparasi dengan cara diseduh selama 30 menit menggunakan akuades panas sebanyak 100 ml dengan suhu 95°C sebagai suhu awal penyeduhan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan melihat penghambatan radikal DPPH. Daya aktivitas antioksidan dihitung dalam nilai persen inhibisi dan IC₅₀. Signifikasi perbedaan data hasil seduhan daun salam dan kuersetin dianalisis menggunakan SPSS 23 dengan uji *Independent T Test*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan pengujian menggunakan metode DPPH. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari sampel seduhan daun salam yaitu $66,91 \pm 3,03$ ppm dengan kategori kuat. Hasil nilai IC₅₀ sampel seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding kuersetin yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar $14,04 \pm 0,75$ ppm dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Daun Salam, Seduhan, Antioksidan, DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STEEPING SALAM LEAF (*Syzygium polyanthum*) USING DPPH METHOD

ABSTRACT

Salam leaves contain chemical compounds, namely essential oils, flavonoids, tannins and methyl kavicol (estragole), these compounds have antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of steeping salam leaves.

Antioxidant activity was tested using the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) by UV-Vis spectrophotometry. The sample tested was in the form of very coarse bay leaf simplicia powder which was prepared by brewing for 30 minutes using 100 ml of hot distilled water at 95°C as the initial brewing temperature. Testing of antioxidant activity was carried out by looking at the inhibition of DPPH radicals. The antioxidant activity was calculated in the percentage value of inhibition and IC₅₀. The significance of the difference in the data from steeping bay leaves and quercetin was analyzed using SPSS 23 with the *Independent T Test*.

The results showed that the steeping of salam leaves had antioxidant activity by testing using the DPPH method. IC₅₀ obtained from the steeped salam leaf sample, namely 66.91 ± 3.03 ppm in the strong category. IC₅₀ samples of steeping salam leaves have lower antioxidant activity compared to quercetin, namely the IC₅₀ of 14.04 ± 0.75 ppm with a very strong category.

Keywords: Salam Leaves, Steeping, Antioxidants, DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal oleh masyarakat. Daun salam dapat digunakan dalam bentuk segar maupun kering (Silalahi, 2017). Masyarakat biasanya memanfaatkan daun salam sebagai bumbu penyedap dalam masakan dan dimanfaatkan juga sebagai obat tradisional (Harismah dan Chusniatun, 2016). Pembuatan obat tradisional daun salam dapat dibuat dalam bentuk seduhan (Saminan, 2015). Daun salam sering digunakan sebagai obat tradisional karena banyak memiliki kandungan kimia yang bermanfaat bagi tubuh.

Kandungan kimia yang terdapat pada daun salam yaitu minyak atsiri 0,2% (sitral, eugenol), flavonoid (katekin dan rutin), tanin dan metil kavicol (*methyl chavicol*) yang dikenal sebagai estragole atau *p-allylanisole*, senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Harismah dan Chusniatun, 2016). Hasanah (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak daun salam memiliki kandungan alkaloid, saponin, quinon, fenolik, triterpenoid, steroid dan flavonoid. Senyawa flavonoid ini merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang mempunyai sifat antioksidatif. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu berupa kuersetin dan fluoretin (Siregar, 2015). Kuersetin merupakan senyawa yang sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan diantaranya dapat dilakukan dengan menggunakan metode FRAP, DPPH dan FIC (Maesaroh dkk., 2018). Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan yang sederhana dan cepat. Penggunaan bahan kimia maupun sampel yang digunakan relatif sedikit (Jami'ah dkk., 2018). Prinsip pengukuran antioksidan dengan metode DPPH yaitu jika terjadi pemudaran warna dari radikal DPPH akibat adanya antioksidan yang dapat menetralkan molekul radikal bebas. Radikal DPPH yang sebelumnya berwarna akan kehilangan warnanya jika terdapat antioksidan (Wulan dkk., 2019).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan melihat absorbansinya pada panjang gelombang maksimal (Jami'ah dkk., 2018). Analit yang dapat diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna (Warono dan Syamsudin, 2013). DPPH merupakan bubuk kristal berwarna gelap yang terdiri dari molekul radikal bebas yang stabil, sehingga dapat dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Wulan dkk., 2019). Berdasarkan latar belakang tersebut maka akan dilakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan seduhan daun salam dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

B. Rumusan Masalah

Apakah seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH?

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas antioksidan seduhan daun salam yang diuji dengan metode DPPH.

D. Manfaat Penelitian**1. Bagi Peneliti**

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan pada seduhan daun salam dengan menggunakan metode DPPH.

2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas antioksidan pada seduhan daun salam.

3. Bagi Institusi

Dapat memberikan referensi bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang daun salam dan dapat dijadikan sebagai sumber literatur yang dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Tanaman Salam

a. Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal oleh masyarakat. Daun salam banyak dimanfaatkan sebagai bumbu penyedap dalam masakan dan sebagai pengobatan tradisional, karena ketersediaannya yang mudah untuk dicari (Harismah dan Chusniatun, 2016). Daun salam memiliki beberapa nama daerah yaitu salam (Indonesia, Sunda, Jawa, Madura), Gowok (Sunda), Manting (Jawa), Kastolam, (Kangean), Meselangan, Ubar serai (Melayu) (Pardosi, 2018).

Klasifikasi tanaman salam berdasarkan Gunawan dkk. (2019) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.

b. Morfologi Tanaman Salam

Tanaman salam memiliki daun tunggal yang berhadapan dan helai daun licin tidak berbulu. Daun salam (Gambar 1) pada bagian permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau keputihan, bentuk helai jorong melonjong atau lanset dengan panjang 5-15 cm dan lebar 2-6 cm. Pertulangan daun sekunder berjumlah 6-11 pasang, memiliki bunga majemuk dalam malai serta tumbuh di ketiak daun, kecil berwarna putih dan berbau harum (Gunawan dkk., 2019).



Gambar 1. Daun Salam (Sumber : dokumentasi pribadi)

c. Kandungan Kimia Daun Salam

Daun salam memiliki kandungan kimia antara lain yaitu minyak atsiri (sitril, eugenol), terpenoid, steroid, tanin, saponin, alkaloid, flavonoid (katekin dan rutin), polifenol, karbohidrat, Vitamin A, C, E, B6 dan B12, folat, riboflavin dan thiamin. Daun salam memiliki kandungan senyawa aktif yaitu β -sitosterol dan niacin, serta memiliki kandungan mineral yaitu selenium, magnesium, kalsium, seng, sodium, potassium, besi dan posfor (Sanjiwani dan Sudiarsa, 2021).

Daun salam mempunyai kandungan kimia minyak atsiri sebanyak 0,2% (sital, eugenol), flavonoid (katekin dan rutin), tanin dan metil kavicol (*methyl chavicol*) yang dikenal sebagai estragole atau *p-allylanisole*, senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Harismah dan Chusniatun, 2016). Agustina dkk. (2016) menyatakan bahwa daun salam memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid dan tanin.

d. Manfaat Daun Salam

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) mempunyai manfaat dalam pengobatan yaitu dapat menurunkan tekanan darah tinggi, menurunkan kadar kolesterol, mengurangi dislipidemia, khususnya hipertrigliseridemia. Daun salam juga dapat digunakan untuk menghentikan buang air besar yang berlebihan (Sanjiwani dan Sudiarsa, 2021). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun salam mempunyai manfaat sebagai antioksidan alami, karena dalam aktivitas sebagai antioksidannya dapat menangkal radikal bebas 50% lebih besar dibandingkan dengan vitamin C (Hasanah, 2015).

2. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan akibat radikal bebas dengan cara menghambat mekanisme oksidatifnya (Aditya dan Ariyanti, 2016). Radikal bebas dihasilkan dari beberapa faktor yaitu seperti asap, debu, polusi, kebiasaan mengkonsumsi makanan cepat saji yang tidak seimbang antara

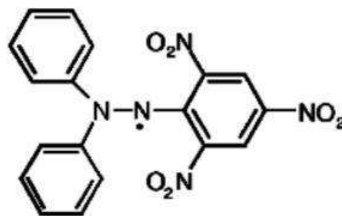
karbohidrat, protein dan lemaknya (Rahmi, 2017). Tubuh manusia secara alami dapat memproduksi antioksidan sendiri untuk mengimbangi jumlah oksidan yang masuk kedalam tubuh. Jumlah oksidan yang melebihi batas kemampuan yang bisa diterima oleh antioksidan alami tubuh memerlukan antioksidan lain yang berasal dari luar (Wulansari, 2018).

Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari bahan alam maupun dari sintetik (Wulansari, 2018). Buah buahan dan tanaman merupakan sumber potensial yang mengandung antioksidan alami (Rahmi, 2017). Tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan yaitu tanaman yang mengandung karotenoid dan polifenol terutama flavonoid, sehingga banyak diformulasikan sebagai antioksidan alami yang dapat dibuat dalam bentuk sediaan oral sebagai vitamin dan topikal (Haerani dkk., 2018). Antioksidan sintetik yang banyak digunakan yaitu *buthylatedhydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA), dan *ters-buthyl hidroquinone* (TBHQ) secara efektif dipercaya dapat menghambat oksidasi. Antioksidan sintetik dalam penggunaannya dibatasi oleh aturan pemerintah karena penggunaan yang melebihi batas akan bersifat karsinogenik (Wulansari, 2018).

3. DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil)

DPPH yaitu singkatan umum untuk senyawa kimia organik (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil). DPPH merupakan bubuk kristal berwarna gelap yang terdiri dari molekul radikal bebas yang stabil (Wulan dkk., 2019). DPPH sering digunakan sebagai salah satu metode untuk menentukan

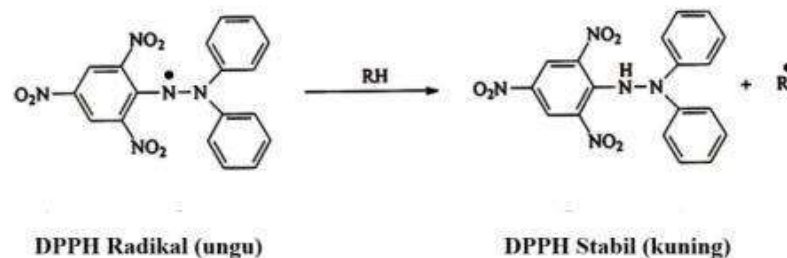
aktivitas antioksidan (Ikhrar dkk., 2019). Metode DPPH memiliki kelebihan yaitu termasuk kedalam metode yang sederhana, mudah, cepat, peka dan penggunaan bahan kimia maupun sampel yang digunakan relatif sedikit (Rahmawati dkk., 2015). Struktur DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur DPPH (Hartini, 2020)

Metode DPPH ini memiliki prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu adanya perubahan intensitas warna ungu dari DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH itu sendiri (Rizkayanti dkk., 2017). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan sifat radikal bebas dari DPPH (Murwanto dan Santosa, 2012). Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu, warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya penghambatan radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel, sehingga akan terbentuk senyawa difenil pikril hidrazin yang akan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Rizkayanti dkk., 2017). Perubahan warna dapat diamati dalam bentuk penurunan

absorbansi DPPH (Murwanto dan Santosa, 2012). Konsentrasi sampel akan berpengaruh terhadap hasil absorbansinya, semakin besar konsentrasi sampel maka hasil absorbansi yang terbaca semakin kecil, yang berarti aktivitas sampel dalam menangkap radikal DPPH semakin besar. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan larutan sampel (Handayani dkk., 2018). Reaksi yang terjadi antara radikal bebas dan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi yang Terjadi antara Radikal Bebas dan Antioksidan (Hartini, 2020)

4. Spektrofotometer UV-Vis

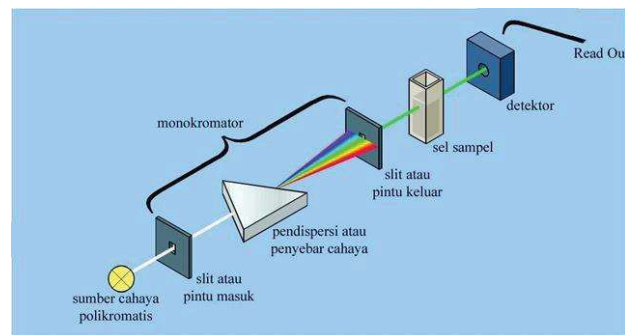
Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa berdasarkan absorbansi foton (Irawan, 2019). Senyawa yang dapat diidentifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis yaitu senyawa yang umumnya mempunyai gugus kromofor dan gugus auksokrom (Sahumena dkk., 2020).

Zat yang dapat diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis yaitu berupa larutan. Analit yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna yaitu analit yang mempunyai sifat dapat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna yaitu analit yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna (Warono dan Syamsudin, 2013).

Spektrofotometer memiliki prinsip kerja berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar yang dilewatkan pada suatu larutan dengan panjang gelombang tertentu. Sinar tersebut sebagian akan ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan. Besarnya sinar (A) berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap (C) dan jarak yang ditempuh sinar (a) dalam larutan (tebal larutan, b). Hukum Lambert-Beer yaitu $A = a.b.C$ (Warono dan Syamsudin, 2013).

Spektrofotometer UV-Vis atau spektrofotometer ultraviolet sinar tampak yaitu menggunakan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah *visible* atau sinar tampak. Spektrofotometer ini terdapat 2 jenis yaitu Was berkas tunggal (*single beam*) dan berkas rangkap (*double beam*). Perbedaan dari masing masing jenis ini yaitu terlihat pada spektrofotometer *double beam*, pengukuran

dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan contoh atau standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang. Pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena blanko dan zat diukur pada saat yang bersamaan. Sistem spektrofotometer ini secara umum terdiri dari sumber radiasi, monokromator, foto sel, detektor, dan tampilan (*display*) (Warono dan Syamsudin, 2013). Bagian bagian Spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagian bagian Spektrofotometer UV-Vis (Suhartati, 2017)

Bagian bagian Spektrofotometer UV-Vis yaitu terdiri dari;

1) Sumber Radiasi

Sumber radiasi dari Spektrofotometer UV-Vis yaitu berupa lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 250 nm. Sumber radiasi memiliki fungsi yaitu memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk

pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran (Warono dan Syamsudin, 2013).

2) Monokromator

Monokromator memiliki fungsi yaitu menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh, dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar (Warono dan Syamsudin, 2013).

3) Sel atau kuvet

Sel atau kuvet merupakan tempat untuk meletakkan bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca tembus sinar atau dapat terbuat dari plastik. Kuvet dari bahan kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena bahan kaca silikat dapat menyerap ultraviolet (Warono dan Syamsudin, 2013).

4) Fotosel

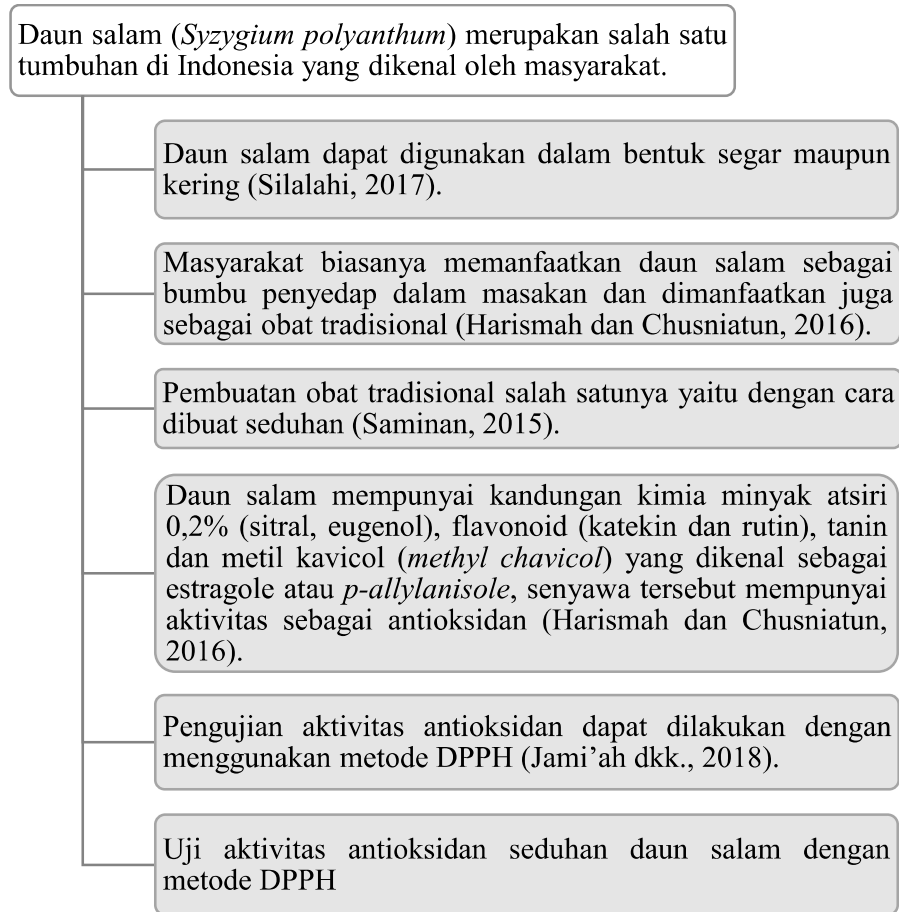
Fotosel memiliki fungsi yaitu menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang akan disampaikan ke detektor. Detektor yaitu berupa material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya dalam bentuk lain yaitu berupa energi listrik (Warono dan Syamsudin, 2013).

5) *Display* atau tampilan

Display atau tampilan yaitu mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis (Warono dan Syamsudin, 2013).

B. Kerangka Berfikir

Kerangka berfikir dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Alur Kerangka Berfikir

C. Hipotesa

Seduhan daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antioksidan yang diuji menggunakan metode DPPH.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penrelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental *Post Test Only Design* untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari seduhan daun salam dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

B. Tempat dan Waktu

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta. Waktu penelitian dilakukan mulai Januari 2023 sampai Maret 2023.

C. Sampel Penelitian

Sampel simplisia daun salam diperoleh dari CV. Herbal Anugrah Alam yang berada di daerah Mayungan Salakan RT 04, Potorono, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus dan ACIS), *blander* (Philips), ayakan nomor 8 (Gopas), ayakan nomor 60 (Gopas), gelas beker (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), *hot plate* (Maspion), batang pengaduk, kertas saring, corong kaca (Herma), tabung reaksi, *alumunium foil*, termometer, mikropipet (Smart), pipet tetes, labu ukur (Iwaki), *stopwatch* dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia daun salam, akuades, etanol p.a, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) dan kuersetin.

E. Variabel Operasional

1. Variabel Bebas : Seduhan daun salam
2. Variabel Terikat : Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*)
3. Variabel Terkendali : Jumlah sampel, lama waktu penyeduhan, lama waktu inkubasi, ukuran ayakan

F. Definisi Operasional

1. Seduhan daun salam yang digunakan yaitu berasal dari 2 gram serbuk sangat kasar simplisia daun salam yang diseduh menggunakan akuades panas sebanyak 100 ml dengan suhu 95°C sebagai suhu awal penyeduhan. (Fadilah dkk., 2021).
2. Waktu penyeduhan yang digunakan dalam membuat seduhan daun salam yaitu 30 menit (Fadilah dkk., 2021).
3. Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) adalah besar konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH (Widyasanti dkk., 2016).
4. Ukuran ayakan yang digunakan yaitu menggunakan nomor ayakan 8/60. Hasil ayakan yang dapat melewati ayakan nomor 8 tidak boleh melewati ayakan nomor 60 dengan batas maksimal yang diperbolehkan yaitu 20% (Farmakope Indonesia Edisi VI, 2020).

G. Pengumpulan Data

Data yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu berupa data pembuatan serbuk sangat kasar daun salam, pembuatan sampel seduhan daun salam, pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan stok sampel, pembuatan larutan pembanding, pengukuran daya antioksidan DPPH, pengukuran aktivitas antioksidan seduhan daun salam dan pengukuran aktivitas antioksidan kuersetin sebagai pembanding.

H. Teknik Pengumpulan Data

1. Pembuatan Serbuk Sangat Kasar Daun Salam

Simplisia daun salam diperkecil ukurannya secara manual menggunakan tangan dan dengan *blander*, kemudian ditimbang sebanyak 25 gram. Daun salam yang sudah ditimbang selanjutnya diayak menggunakan ayakan nomor 8/60 yang tergolong kedalam kategori serbuk sangat kasar. Hasil ayakan yang dapat melewati ayakan nomor 8 tidak boleh melewati ayakan nomor 60 dengan batas maksimal yang diperbolehkan yaitu 20% (Farmakope Indonesia Edisi VI, 2020).

2. Pembuatan Sempel Seduhan Daun Salam

Sampel seduhan daun salam dibuat dengan menimbang serbuk sangat kasar daun salam sebanyak 2 gram. Sampel dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan akuades panas 95°C sebagai suhu awal penyeduhan sebanyak 100 ml. Penyeduhan dilakukan selama 30 menit dengan suhu akuades yang akan turun selama waktu penyeduhan. Hasil seduhan daun

salam disaring menggunakan saringan dan kertas saring (Fadilah dkk., 2021).

3. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 ml (100 ppm). Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan mengambil larutan DPPH (100 ppm) sebanyak 50 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 100 ml.

4. Pembuatan Larutan Stok Sampel

Larutan stok sampel 1000 ppm dibuat dengan mengambil 0,5 ml sampel seduhan daun salam dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml. Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

5. Pembuatan Larutan Pembanding

Serbuk kuersetin ditimbang 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 10 ml (1000 ppm). Pembuatan larutan pembanding 100 ppm dilakukan dengan mengambil larutan pembanding (1000 ppm) sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml (Jasman dkk., 2021). Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm dan 18 ppm.

6. Pengukuran Antioksidan Blanko

Pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH dilakukan dengan mengambil 2 ml larutan DPPH, kemudian divorteks dan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang

gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021; Fadilah dkk., 2021).

7. Pengukuran Seduhan Daun Salam

Pengukuran aktivitas antioksidan seduhan daun salam dilakukan dengan mengambil 0,25 ml larutan seduhan daun salam dari berbagai konsentasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm). Masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan DPPH sebanyak 1,75 ml dan kemudian larutan divorteks serta diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021).

8. Pengukuran Kuersetin Sebagai Pembanding

Pengukuran aktivitas antioksidan kuersetin dilakukan dengan mengambil 0,25 ml kuersetin dari berbagai konsentasi (2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm, dan 18 ppm). Masing masing konsentrasi ditambahkan dengan DPPH sebanyak 1,75 ml dan kemudian larutan divorteks serta diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021).

I. Analisa Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu untuk data hasil pengukuran dalam bentuk absorbansi (A) dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan rumus 3.1.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) pada masing masing sampel dicari dari hasil persamaan regresi linear dalam bentuk $y = a + bx$. Nilai konsentrasi dari seduhan daun salam dan pembanding kuersetin digunakan sebagai nilai x dan persen inhibisi sebagai nilai y . Setelah didapatkan persamaan regresi linernya, kemudian masukkan angka 50 pada nilai y untuk mencari nilai x (nilai IC_{50}) (Jasman dkk., 2021). Nilai IC_{50} adalah besar konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Widyasanti dkk., 2016). Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dikategorikan dengan melihat pada Tabel I.

Tabel I. Kategori Nilai IC_{50} (Salim, 2018)

Nilai IC_{50}	Kategori
≤ 50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
151-200	Rendah

Nilai IC_{50} yang telah didapatkan dari sampel dan pembanding dikategorikan berdasarkan Tabel I. Signifikasi hasil pengkategorian nilai IC_{50} sampel dan pembanding dianalisis normalitas menggunakan SPSS 23 dengan uji *Shapiro Wilk*. Data yang terdistribusi normal ditandai dengan nilai sig > 0,05 akan dilanjutkan dengan uji *Independen T Test* (uji tidak berpasangan).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

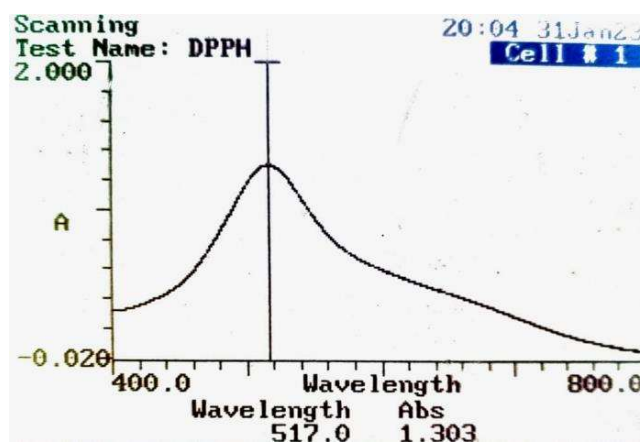
Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan akibat radikal bebas dengan cara menghambat mekanisme oksidatifnya (Aditya dan Ariyanti, 2016). Pengujian aktivitas antioksidan salah satunya yaitu dapat menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*). DPPH merupakan bubuk kristal yang berwarna gelap dan terdiri dari molekul radikal bebas yang stabil (Wulan dkk., 2019). Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode DPPH dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Sampel yang diuji aktivitas antioksidanya yaitu berupa simplisia daun salam yang diperoleh dari CV. Herbal Anugrah Alam yang berada di daerah Mayungan Salakan RT 04, Potorono, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta. Simplisia daun salam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu memiliki ciri-ciri berupa helaian daun tunggal, tulang daun pendek, pangkal daun runcing, bagian permukaan bawah dan atas daun berwarna coklat serta memiliki bau aromatik lemah. Pembanding yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang banyak ditemukan pada sayur dan buah yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Widyasari dkk., 2019). Wati (2022) dalam penelitiannya juga menyatakan bahwa kuersetin merupakan senyawa golongan flavonol (bagian dari flavonoid) yang banyak terkandung dalam buah-buahan dan sayur-sayuran.

Sampel simplisia daun salam yang digunakan dalam penelitian ini diperkecil ukurannya menggunakan alat bantu *blander* dan kemudian akan dilakukan proses

pengayakan. Pengayakan dilakukan menggunakan nomor ayakan 8/60 dengan serbuk yang dihasilkan masuk kedalam kategori serbuk sangat kasar. Pemilihan ukuran tersebut karena melihat sediaan teh yang tersedia di masyarakat salah satunya yaitu jenis teh tubruk. Teh tubruk merupakan teh tradisional yang dibuat dengan potongan daun teh yang masih sedikit kasar serta cara menikmatinya yaitu dengan diseduh menggunakan air panas (Naja dan Rahayu, 2022). Berdasarkan hal tersebut penelitian ini menggunakan nomor ayakan 6/80 untuk mendapatkan serbuk dengan kategori sangat kasar. Penggunaan nomor ayakan 6/80 yaitu menandakan bahwa hasil ayakan yang dapat melewati ayakan nomor 8 tidak boleh melewati ayakan nomor 60 dengan batas maksimal yang diperbolehkan yaitu 20% (Farmakope Indonesia Edisi VI, 2020). Penggunaan 2 nomor ayakan ini bertujuan untuk mendapatkan serbuk dengan kategori sangat kasar yang masuk kedalam rentang ukuran ayakan nomor 8 – nomor 60 dan untuk menghasilkan ukuran serbuk yang seragam (Fakhrudduja dan Iskandar, 2016). Hasil serbuk sangat kasar daun salam ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian diseduh dengan akuades sebanyak 100 ml menggunakan *beaker glass*. Penyeduhan menggunakan akuades dengan suhu awal 95°C selama 30 menit dan hasil seduhan disaring menggunakan kertas saring (Fadilah dkk., 2021). Hasil seduhan tersebut dibuat larutan stok sampel 1000 ppm. Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

Larutan pembanding kuersetin dibuat 100 ppm dengan variasi konsentrasi yaitu 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm dan 18 ppm. Larutan DPPH dibuat sebesar 50 ppm dan digunakan juga sebagai larutan blanko yang diukur panjang gelombang

maksimalnya. Fadilah dkk. (2021) dalam penelitiannya menyatakan bahwa larutan yang digunakan sebagai blanko dan yang diukur panjang gelombang maksimalnya adalah larutan DPPH. Penggunaan DPPH sebagai larutan blanko serta diukur panjang gelombang maksimalnya yaitu berfungsi untuk melihat konsentrasi radikal bebas dari larutan DPPH sebelum penambahan senyawa uji dan nilai absorbansinya digunakan sebagai faktor pengurang dari larutan DPPH yang telah ditambahkan senyawa uji sehingga akan didapatkan nilai % inhibisi (Sulandi, 2013). Larutan DPPH 50 ppm diambil sebanyak 2 ml digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimalnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada daerah panjang gelombang 400-800 nm dan mendapatkan panjang gelombang maksimal 517 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jasman dkk (2021) dimana panjang gelombang maksimal yang digunakan yaitu 517 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal pada larutan DPPH dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal larutan DPPH (517 nm)

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dan pembanding dilakukan dengan mengambil 0,25 ml dari masing-masing konsentrasi, dimana untuk variasi konsentrasi dari sampel yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan variasi konsentrasi pembanding yaitu 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm dan 18 ppm. Larutan sampel dan pembanding tersebut masing-masing ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 1,75 ml. Larutan kemudian divorteks dan diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap. Proses dilakukannya inkubasi di ruangan gelap yaitu agar larutan DPPH terhindar dari sinar matahari ataupun cahaya yang dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi pada larutan (Idris, 2017). Inkubasi yang dilakukan selama 30 menit bertujuan agar zat yang bersifat sebagai antioksidan berikatan dengan radikal DPPH (Yuliani dan Dienina, 2015). Larutan DPPH yang memiliki elektron tidak berikatan akan memberikan warna ungu, warna akan berubah menjadi kuning jika elektronnya berikatan dengan zat yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Rizkayanti dkk., 2017). Absorbansi larutan tersebut diukur pada panjang gelombang maksimal 517 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Jasman dkk., 2021).

Perubahan warna pada larutan DPPH terjadi karena adanya reaksi antara atom hidrogen yang lepas dari sampel yang diuji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikril hidrazin. Reaksi tersebut yang menyebabkan perubahan larutan yang berwarna ungu menjadi kuning. Perubahan warna kuning tersebut menandakan bahwa sampel yang diuji memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Rahmawati dkk., 2015). Berdasarkan penelitian Hasanah (2015) menyimpulkan bahwa daun salam memiliki kandungan senyawa berupa flavonoid

yang berperan sebagai antioksidan alami. Flavonoid merupakan salah satu kelompok fenolik yang memiliki sifat antioksidatif yang berperan dalam mencegah kerusakan sel oleh radikal bebas. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yaitu dengan mendonasikan atom hidrogennya (Hasanah, 2015). Mekanisme flavonoid dalam menghambat radikal bebas yaitu dengan cara mendonorkan radikal hidrogen dari cincin aromatikanya untuk mengurangi radikal bebas yang bersifat toksik, menghasilkan radikal flavonoid yang terstabilkan dan membuatnya tidak toksik (Sari, 2022).

Absorbansi sampel dan pembanding dicari menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, hasil absorbansi tersebut kemudian digunakan untuk mencari nilai persen inhibisi menggunakan rumus 3.1. Hasil nilai rata-rata persen inhibisi dari 3 replikasi sampel seduhan daun salam dan pembanding kuersetin dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Nilai Persen Inhibisi Seduhan Daun Salam dan Kuersetin

Kelompok	Konsentrasi (ppm)	Nilai % Inhibisi
Seduhan Daun Salam	20	26,58 ± 1,99
	40	38,03 ± 2,11
	60	49,69 ± 2,84
	80	55,39 ± 2,04
	100	64,74 ± 3,28
Kuersetin	2	22,80 ± 4,10
	6	30,64 ± 0,73
	10	39,40 ± 0,42
	14	46,65 ± 1,60
	18	62,36 ± 2,99

Nilai persen inhibisi akan digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*). Nilai IC_{50} merupakan besar konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH (Widyasanti dkk., 2016). Nilai IC_{50} pada masing-masing kelompok dicari dari hasil persamaan regresi linear dalam bentuk

$y = a + bx$ (Jasman dkk., 2021). Hasil persamaan regresi linear untuk seduhan daun salam yaitu $y = 0,3971x + 22,042$ (R1), $y = 0,4934x + 17,675$ (R2), $y = 0,5148x + 16,625$ (R3) dan hasil persamaan regresi linear kuersetin yaitu $y = 2,4204x + 14,445$ (R1), $y = 2,3659x + 16,357$ (R2), $y = 2,348x + 18,974$ (R3). Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan regresi linear masing-masing replikasi pada setiap kelompok mendapatkan hasil nilai IC_{50} . Hasil perhitungan nilai IC_{50} pada masing-masing replikasi setiap kelompok digunakan untuk mencari rata-rata nilai IC_{50} . Hasil perhitungan rata-rata nilai IC_{50} dari 3 kali replikasi pada setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Nilai IC_{50} Seduhan Daun Salam dan Kuersetin

Kelompok	Nilai IC_{50} (ppm)
Seduhan Daun Salam	$66,91 \pm 3,03$
Kuersetin	$14,04 \pm 0,75$

Nilai IC_{50} pada sampel seduhan daun salam dan pembanding kuersetin kemudian dikategorikan berdasarkan kekuatannya. Nilai IC_{50} jika besarnya ≤ 50 ppm dikategorikan sangat kuat, 50-100 ppm dikategorikan kuat, 100-150 ppm dikategorikan sedang dan 151-200 ppm dikategorikan rendah (Salim, 2018). Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yaitu ditandai dengan semakin kecil nilai IC_{50} yang diberikan (Widyasanti dkk., 2016). Hasil nilai IC_{50} pada sampel seduhan daun salam yaitu $66,91 \pm 3,03$ ppm yang berarti masuk kedalam kategori kuat dan nilai IC_{50} pada pembanding kuersetin yaitu $14,04 \pm 0,75$ ppm yang masuk kedalam kategori sangat kuat. Hasanah (2015) dalam penelitiannya juga menyatakan bahwa daun salam memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Hasil nilai IC_{50} yang telah didapatkan dari sampel dan pembanding dianalisis normalitas menggunakan SPSS 23 dengan uji *Shapiro Wilk*. Hasil nilai sig dari kelompok sampel seduhan daun salam yaitu 0,215 dan kelompok pembanding kuersetin 0,604. Nilai sig tersebut menandakan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Dari hasil tersebut kemudian dilakukan uji *Independent T Test* dengan hasil pada bagian *Levene's Test* nilai sig $> 0,05$ yaitu sebesar 0,051. Nilai sig tersebut menandakan bahwa varian data antara kelompok sampel seduhan daun salam dan kelompok pembanding kuersetin homogen. Nilai sig (2-tailed) jika $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 menandakan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima. Berdasarkan data tersebut bahwa secara statistik terdapat perbedaan signifikan hasil nilai IC_{50} antara kelompok sampel seduhan daun salam dan kelompok pembanding kuersetin. Perbedaan tersebut dapat dilihat dari hasil nilai IC_{50} dari masing-masing kelompok yaitu dimana nilai IC_{50} dari sampel seduhan daun salam sebesar $66,91 \pm 3,03$ ppm dengan kategori kuat dan nilai IC_{50} pada pembanding kuersetin sebesar $14,04 \pm 0,75$ ppm dengan kategori sangat kuat. Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel seduhan daun salam karena kuersetin merupakan isolat yang hanya terdiri dari satu golongan senyawa dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Wati, 2022). Aktivitas antioksidan pada sampel seduhan daun salam lebih rendah karena sampel yang digunakan berupa simplisia daun salam yang dikeringkan menggunakan metode kering matahari, sehingga terdapat kemungkinan senyawa yang terkandung rusak atau berkurang pada proses pengeringan tersebut (Ariani dkk., 2022).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan pengujian menggunakan metode DPPH. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari sampel seduhan daun salam yaitu $66,91 \pm 3,03$ ppm yang tergolong kedalam kategori kuat. Hasil nilai IC_{50} sampel seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding kuersetin yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar $14,04 \pm 0,75$ ppm yang tergolong kategori sangat kuat.

B. Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait dengan pemberian variasi lama waktu penyeduhan dalam uji aktivitas antioksidan seduhan daun salam dengan metode DPPH.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait dengan pemberian variasi ukuran serbuk sampel daun salam dalam uji aktivitas antioksidan seduhan daun salam dengan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, M., dan Ariyanti, P. R., 2016. Manfaat Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Sebagai Antioksidan. *Majority*. 5 (3): 129-133.
- Agustina, S., Ruslan, dan Wiraningtyas, A., 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. 4 (1), 71-76.
- Anggraini, A., 2020. Manfaat Antioksidan Daun Salam Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Penurunan Apoptosis Neuron Di Hippocampus Otak Tikus Yang Mengalami Diabetes. *Jurnal Medika Utama*. 2 (1): 349-355.
- Ariani, N., Musiam, S., Niah, R., dan Febrianti, D. R., 2022. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience*. 9 (1): 40-47.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Fadilah, N. N., Fitriana, A. S., dan Prabandari, R., 2021. Pengaruh Lama Waktu Penyeduhan dan Bentuk Sediaan Teh Herbal Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Aktivitas Antioksidan. Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (SNPPKM).383-389.
- Fakhrudduja, M. F., dan Iskandar, N. 2016. Pengaruh Rasio Diameter Dan Panjang Terhadap Sifat Fisis Dan Mekanis Batang Silindris Dari Sekam Padi. *Jurnal Teknik Mesin S-1*. 4 (2), :152-159.
- Gunawan , H., Sugiarti, Wardani, M., dan Mindawati, N., 2019. 100 Spesies Pohon Nusantra Target Konservasi Ex Situ Taman Keanekaragaman Hayati. Bogor : IPB Press. 1-135.
- Haerani, A., Chaerunisa, A. Y., dan Subarnas, A., 2018. Artikel Tinjauan : Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka*. 16 (2): 135-151.
- Handayany, G. N., Umar, I., dan Ismail, I., 2018. Formulasi Dan Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*. 11 (2): 86-90.

- Harismah, K., dan Chusniatun., 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal dan Rempah Penyedap Makanan. *WARTA LPM*. 19 (2): 110-118.
- Hartini, N., 2020. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Batang Dan Akar Gulma Siam (*Chromolaena odorata*) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Banda Aceh : Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
- Hasanah, N., 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam. *JURNAL PENA MEDIKA*. 5 (1): 55-59.
- Idris, N. A., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Dari Luwu Utara Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Makassar : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Ikhrar, M. S., Yudistira, A., dan Wewengkang, D. S., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa sp.* Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *PHARMACON*. 8 (4): 961-967.
- Irawan, A., 2019. Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal Of Laboratory*. 1 (2): 1-9.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., dan Nurhikma, E., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*. 4 (1): 34-38.
- Jasman, H., Rahmawati, A., dan Herli, A. M., 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Etanol Limbah Ketapang (*Terminalia catappa*) dengan Metode DPPH. *JOURNAL OF PHARMACY SCIENCE AND PRACTICE*. 8 (1): 8-12.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Anshori, J. A. 2018. Perbandingan Metode Uji Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. 6 (2): 93-100.
- Murwanto, P. E., dan Santosa, D., 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan *Cynara scolimus L.*, *Artemisia china L.*, *Borreria repens DC.*, *Poygala paniculata L.* Hasil Koleksi Dari Tanaman Nasional Gunung Merapi Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 17 (3): 53-60.

- Naja, M. F., dan Rahayu, N. A., 2022. Mengulik Rahasia Dibalik Produk Olahan Lokal Teh Tubruk Mbah Djie Di Kecamatan Sendang Kabupaten Tulungagung. *Jurnal Mahasiswa Manajemen UNITA*. 1 (1):1-7.
- Pardosi, A. P., 2018. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Terhadap Masa Simpan Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). *Skripsi*. Medan : Falkutas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Medan.
- Rahmawati, Muflihunna, A., dan Sarif, L. M., 2015. Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2 (2): 97-101.
- Rahmi, H., 2017. Review : Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Sumber Buah - Buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. 2 (1), 34-38.
- Rizkayanti, Diah, A. W., dan Jura, M. R., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Jurnal Akademia Kimia*. 6 (2): 125-131.
- Sahumena, M. H., Ruslin, Asriyanti, dan Djuwarno, E. N., 2020. Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Journal Syifa and Clinical Researc.*, 2 (2): 65-72.
- Salim, R., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhidrazil). *Jurnal Katalisator*. 3 (2): 153-161.
- Saminan ., 2015. Nilai Spirometri Penderita Batuk Setelah Minum Seduhan Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Sebagai Obat Tradisional. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 23 (1): 28-34.
- Sari, I. P., 2022. Analisis Mutu Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Masa Simpan Permen Jelly. *Skripsi*. Tulungagung : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung.
- Sanjiwani, N. M., dan Sudiarsa, I. W., 2021. Sosialisasi Pemanfaatan Herbal Drink Daun Salam Sebagai Pengobatan Tradisional. *Widyadari*. 22 (2) , 685-693.
- Silalahi, M., 2017. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan). *J D P*. 10 (1): 1-16.
- Siregar, R. N. 2015. The Effect Of *Eugenia polyantha* Extract On LDL cholesterol. *J MAJORITY*. 4 (5): 85-92.
- Suhartati, T., 2017. Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Bandar Lampung : AURA CV. Anugrah Utama Raharja. 1-99.

- Sulandi, A., 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Potianak : Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Warono, D., dan Syamsudin., 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Konversi*. 2 (2): 57-65.
- Wati, D. R., 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Gantung (*Carica papaya* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Jember : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D., dan Ekatama, N., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil - 1- Pikrilhidrazil). *FORTECH*. 1 (1): 3-9.
- Widyasari, E. M., Sriyani, M. E., Daruwati, I., Halimah, L., dan Nuraeni, W. 2019. Karakteristik Fisiko-Kimia Senyawa Bertanda ^{99m} Tc-Kuersetin. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesi*. 20 (1): 9-18.
- Wulan, Yudistira, A., dan Rotinsulu, H., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun *Mimosa pudica* Linn. Menggunakan Metode DPPH. *PHARMACON*. 8 (1): 106-113.
- Wulansari, A.N., 2018. Review : Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami. *Farmaka*. 16 (2): 419 - 429.
- Yuliani, N. N., dan Dienina, D. P. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) Dengan Metode 1,1-diphenil-2-picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*. 14 (2), 1061- 1082.

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian

	YAYASAN PENDIDIKAN INDONESIA PUSAT YOGYAKARTA AKADEMI FARMASI INDONESIA YOGYAKARTA
Nomor : 123/AFI-YO/XII/2022 Hal : Permohonan Izin Penelitian	29 Desember 2022
Kepada Yth. Kepala Laboratorium Akademi Farmasi Indonesia di Tempat	
Dengan Hormat,	
Bersama ini kami mengajukan permohonan izin untuk melakukan penelitian dalam rangka penyelesaian tugas akhir (Karya Tulis Ilmiah) bagi mahasiswa kami :	
Nama	: Roro Sadiyah
NIM	: 2011067007
Judul Penelitian	: Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) Dengan Metode DPPH
Dosen Pembimbing	: apt. Erma Yunita., M.Sc
Lokasi Penelitian	: Laboratorium Akademi Farmasi Indonesia
Demikian permohonan kami, atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.	
Mengetahui Wakil Direktur Bidang Akademik, Kemahasiswaan dan Alumni  apt. Agustina Susilowati., M.Farm	Hormat Kami Dosen Pembimbing  apt. Erma Yunita., M.Sc
Jl. Veteran Gg. Jambu Kebrokan Pandeyan Umbulharjo Yogyakarta Telpn.085100104104, 0274-370458 Email : info@afi.ac.id / afijogja@yahoo.com	
www.afi.ac.id	

Lampiran 2. Surat Pembelian Simplisia



CV Herbal Anugrah Alam

Supplier & Distributor Bahan Baku Jamu | Herbal
Mayungan, Salakan, RT 04, Potorono, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta
Website : www.herbalanugrahalam.com Email : herbalanugrahalam@gmail.com
Hp. 0813 6880 1212 | 0857 0107 1212

SURAT PERNYATAAN

Saya, yang berandatangan di bawah ini ;

Nama : Aa Hidayat
Jabatan : Direktur CV Herbal Anugrah Alam
Alamat : Mayungan Salakan, RT 04, Potorono, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta

Menyatakan bahwa :

Kami, CV Herbal Anugrah Alam adalah benar pemasok bahan jamu / herbal untuk :

Nama : Erma Yunita
Di : Kampus Akademi Farmasi Indonesia
KOTA YOGYAKARTA, UMBULHARJO, DI YOGYAKARTA, ID, 55161

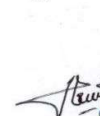
Bahan jamu / herbal tersebut adalah ;

No	Nama Bahan	Kategori
1.	<i>Z. officinale</i> Var.Amarum	Rimpang - Serbuk Mesh-60
2.	<i>Z. officinale</i> Var.Rubrum	Rimpang - Serbuk Mesh-60
3.	<i>Syzygium polyanthum</i>	Daun - Serbuk Mesh-60
4.	<i>Syzygium polyanthum</i>	Daun - Simplisia Kering
5.	<i>Terminalia cattapa</i> L.	Daun - Serbuk Mesh-60
6.	<i>Terminalia cattapa</i> L.	Daun - Simplisia Kering

1. Dalam proses pembuatan dan produksi bahan tersebut tanpa campuran bahan lain.
2. Pengeringan simplisia dilakukan dengan metode kering matahari

Demikian surat pernyataan ini kami buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Yogyakarta, 28 November 2022



Aa Hidayat

Lampiran 3. Perhitungan Larutan

a. Sampel Seduhan Daun Salam (20.000 ppm)

Sebanyak 2 gram sampel daun salam diseduh menggunakan air panas sebanyak 100 ml dengan suhu awal penyeduhan 95° C selama 30 menit. Sampel seduhan daun salam dibuat untuk 3 kali replikasi.

$$\begin{aligned}
 &= \frac{2 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \\
 &= \frac{2000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \\
 &= \frac{2.000.000 \text{ mcg}}{100 \text{ ml}} = 20.000 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

b. Larutan Stok Sampel (1000 ppm)

$$\begin{aligned}
 v1.m1 &= v2.m2 \\
 v1.20.000 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml}.1000 \text{ ppm} \\
 v1 &= \frac{10 \text{ ml} \cdot 1000 \text{ ppm}}{20.000 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

$$v1 = 0,5 \text{ ml} \approx 500\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 10 \text{ ml} - 0,5 \text{ ml} = 9,5 \text{ ml}$$

Dengan mengambil dari sampel seduhan daun salam sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml.

c. Seri Konsentrasi Sampel Seduhan Daun Salam

1. Seri Konsentrasi 20 ppm

$$\begin{aligned}
 v1.m1 &= v2.m2 \\
 v1.1000 \text{ ppm} &= 5 \text{ ml}.20 \text{ ppm} \\
 v1 &= \frac{5 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

$$v1 = 0,1 \text{ ml} \approx 100\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,1 \text{ ml} = 4,9 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 20 ppm dibuat dengan mengambil sampel seduhan daun salam sebanyak 0,1 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

2. Seri Konsentrasi 40 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.40 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,2 \text{ ml} \approx 200\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,2 \text{ ml} = 4,8 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 40 ppm dibuat dengan mengambil sampel seduhan daun salam sebanyak 0,2 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

3. Seri Konsentrasi 60 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.60 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 60 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,3 \text{ ml} \approx 300\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,3 = 4,7 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 60 ppm dibuat dengan mengambil sampel seduhan daun salam sebanyak 0,3 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

4. Seri Konsentrasi 80 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.80 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 80 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,4 \text{ ml} \approx 400\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,4 \text{ ml} = 4,6 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 80 ppm dibuat dengan mengambil sampel seduhan daun salam sebanyak 0,4 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

5. Seri Konsentrasi 100 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.100 \text{ ppm}$$

$$v_1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$v_1 = 0,5 \text{ ml} \approx 500 \mu\text{l}$$

Pembuatan seri konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengambil sampel seduhan daun salam sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

d. Larutan Stok DPPH (50 ppm)

$$\begin{aligned} &= \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{10.000 \text{ mcg}}{100 \text{ ml}} \\ &= 100 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dan diadddkan 100 ml etanol p.a.

$$\begin{aligned} v_1 \cdot m_1 &= v_2 \cdot m_2 \\ v_1 \cdot 100 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm} \\ v_1 &= \frac{100 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}}{100 \text{ ml}} \\ v_1 &= 50 \text{ ml} \end{aligned}$$

Larutan stok DPPH dibuat dengan mengambil sebanyak 50 ml larutan DPPH (100 ppm) dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 100 ml.

e. Larutan Stok Pembanding

$$\begin{aligned} &= \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \\ &= \frac{10.000 \text{ mcg}}{10 \text{ ml}} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml.

$$\begin{aligned} v_1 \cdot m_2 &= v_2 \cdot m_2 \\ v_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm} \\ v_1 &= \frac{10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$v1 = 1 \text{ ml} \approx 1000\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 10 \text{ ml} - 1 \text{ ml} = 9 \text{ ml}$$

Larutan stok kuersetin dibuat dengan mengambil sebanyak 1 ml larutan kuersetin (1000 ppm) dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml.

f. Seri Konsentasi Pembanding

1. Seri Konsentasi 2 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.2 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,1 \text{ ml} \approx 100\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,1 \text{ ml} = 4,9 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 2 ppm dibuat dengan mengambil larutan pembanding sebanyak 0,1 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

2. Seri Konsentasi 6 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.6 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,3 \text{ ml} \approx 300\mu\text{l}$$

$$\text{Jumlah etanol p.a} = 5 \text{ ml} - 0,3 \text{ ml} = 4,7 \text{ ml}$$

Pembuatan seri konsentrasi 6 ppm dibuat dengan mengambil larutan pembanding sebanyak 0,3 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

3. Seri Konsentasi 10 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.10 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,5 \text{ ml} \approx 500\mu\text{l}$$

Jumlah etanol p.a = 5 ml – 0,5 ml = 4,5 ml

Pembuatan seri konsentrasi 10 ppm dibuat dengan mengambil larutan pembanding sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

4. Seri Konsentrasi 14 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.14 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 14 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,7 \text{ ml} \approx 700 \mu\text{l}$$

Jumlah etanol p.a = 5 ml – 0,7 ml = 4,3 ml

Pembuatan seri konsentrasi 14 ppm dibuat dengan mengambil larutan pembanding sebanyak 0,7 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

5. Seri Konsentrasi 18 ppm

$$v1.m1 = v2.m2$$

$$v1.100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml}.18 \text{ ppm}$$

$$v1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 18 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$v1 = 0,9 \text{ ml} \approx 900 \mu\text{l}$$

Jumlah etanol p.a = 5 ml – 0,9 ml = 4,1 ml

Pembuatan seri konsentrasi 18 ppm dibuat dengan mengambil larutan pembanding sebanyak 0,9 ml dan ditambahkan dengan etanol p.a sampai dengan 5 ml.

Lampiran 4. Dokumentasi Tahapan Perlakuan



4.1 Pengecilan Ukuran Daun Salam (Tangan)



4.2 Pengecilan Ukuran Daun Salam (Blander)



4.3 Penimbangan Daun salam (25 gram)



4.4 Pengayakan Daun Salam



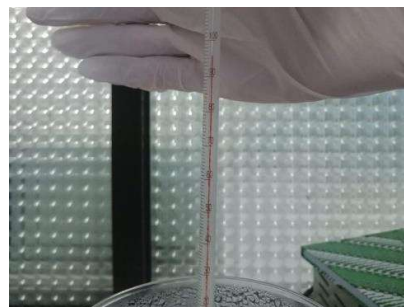
4.5 Penimbangan Sampel Serbuk Kasar Daun Salam



4.6 Penimbangan Serbuk Kuersetin



4.7 Penimbangan Serbuk DPPH



4.8 Penyiapan Air Panas (Suhu 95°C)



4.9 Penyeduhan Sampel Daun Salam



4.10 Penyaringan Seduhan Daun Salam



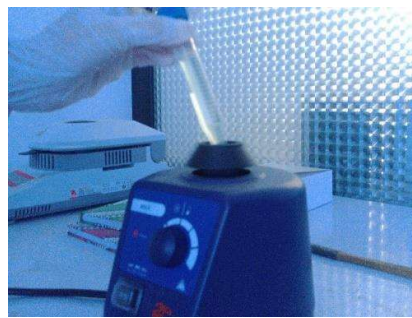
4.11 Pembuatan Larutan Stok SDS dan Pembanding Kuersetin



4.12 Pembuatan Variasi Konsentrasi SDS dan Pembanding Kuersetin



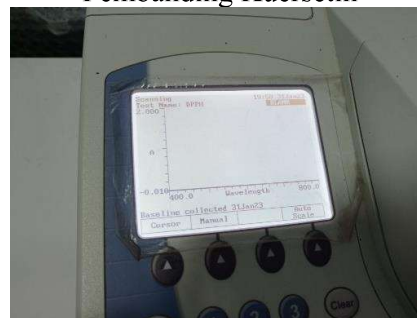
4.13 Pembuatan Larutan DPPH



4.14 Proses Vorteks Larutan SDS dan Pembanding Kuersetin

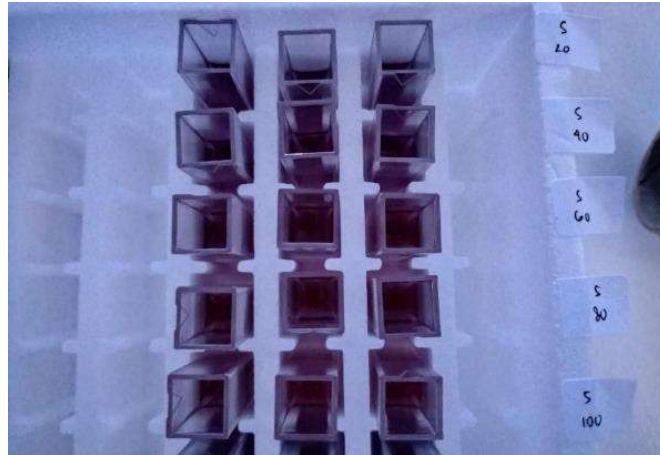


4.15 Proses Inkubasi

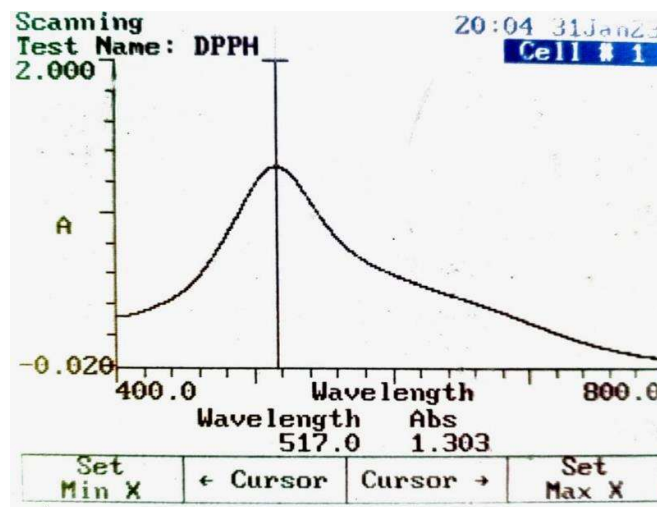


4.16 Pengukuran Absorbansi

Lampiran 5. Perubahan Warna Larutan DPPH yang direaksikan dengan Sampel



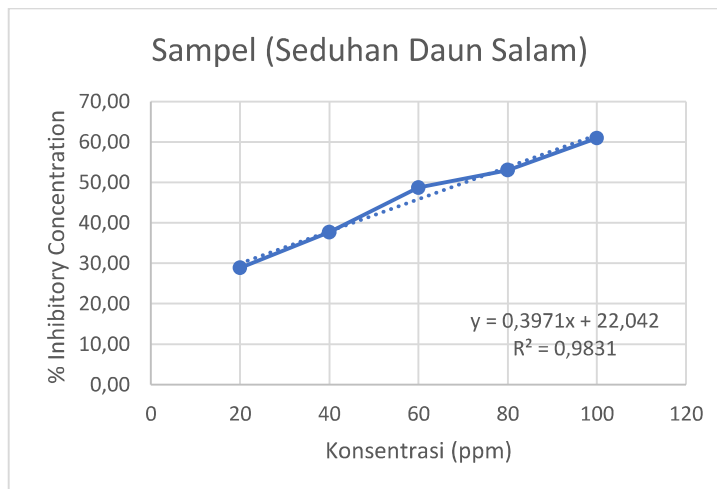
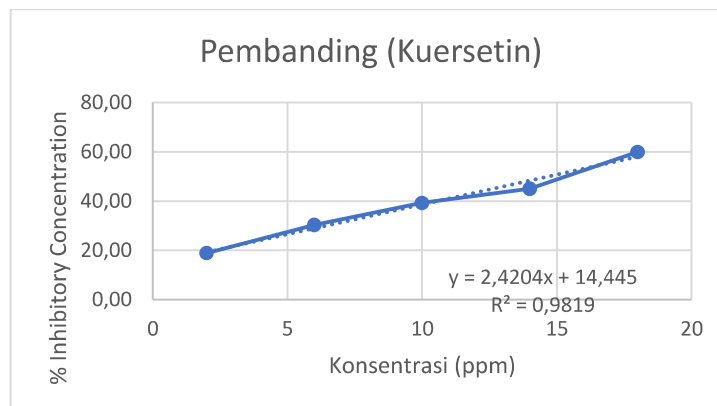
Lampiran 6. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal Larutan DPPH (517 nm)



Lampiran 7. Data Absorbansi, Data Persen Inhibisi, Data IC₅₀ Beserta Grafiknya

a. Data Replikasi 1

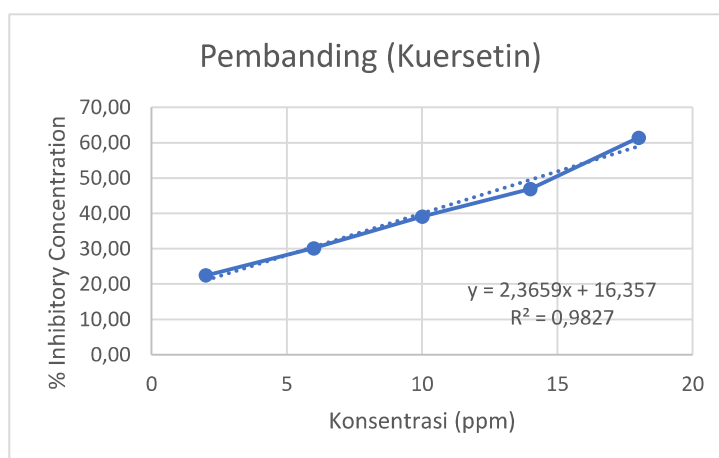
Kelompok	Konsentrasi (ppm)	A	%IC		
Kontrol DPPH	50	1,288			
Pembanding (Kuersetin)	2	1,045	18,87	a	14,445
	6	0,898	30,28	b	2,420
	10	0,783	39,21	R ²	0,982
	14	0,709	44,95	r	0,991
	18	0,516	59,94	IC ₅₀	14,690
Sampel (Seduhan Daun Salam)	20	0,916	28,88	a	22,042
	40	0,802	37,73	b	0,397
	60	0,660	48,76	R ²	0,983
	80	0,605	53,03	r	0,992
	100	0,503	60,95	IC ₅₀	70,405

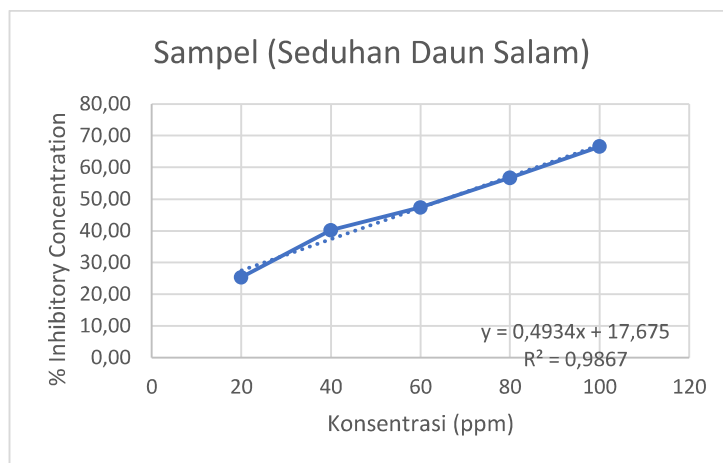


Perhitungan nilai IC_{50} SDS : $y = 0,3971x + 22,042$ $50 = 0,3971x + 22,042$ $x = \frac{50 - 22,042}{0,3971}$ $x = 70,405 \text{ ppm}$	Perhitungan nilai IC_{50} kuersetin : $y = 2,4204x + 14,445$ $50 = 2,4204x + 14,445$ $x = \frac{50 - 14,445}{2,4204}$ $x = 14,690 \text{ ppm}$
--	--

b. Data Replikasi 2

Kelompok	Konsentrasi (ppm)	A	%IC		
Kontrol DPPH	50	1,286			
Pembanding (Kuersetin)	2	0,997	22,47	a	16,357
	6	0,898	30,17	b	2,366
	10	0,783	39,11	R^2	0,983
	14	0,683	46,89	r	0,991
	18	0,496	61,43	IC_{50}	14,220
Sampel (Seduhan Daun Salam)	20	0,959	25,43	a	17,675
	40	0,768	40,28	b	0,493
	60	0,676	47,43	R^2	0,987
	80	0,557	56,69	r	0,993
	100	0,430	66,56	IC_{50}	65,515

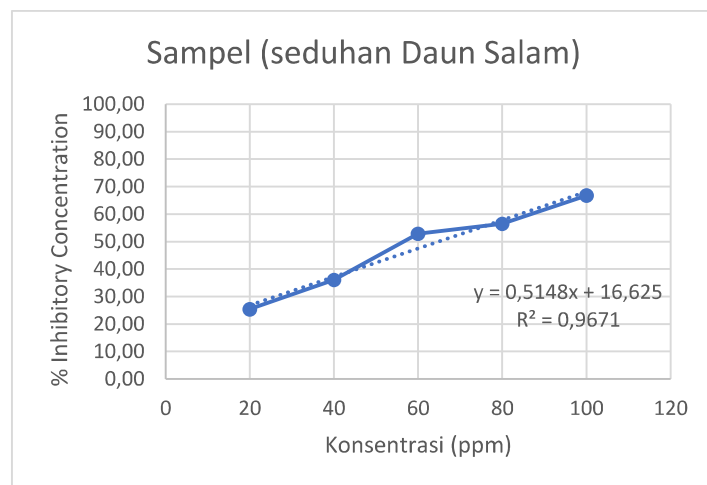
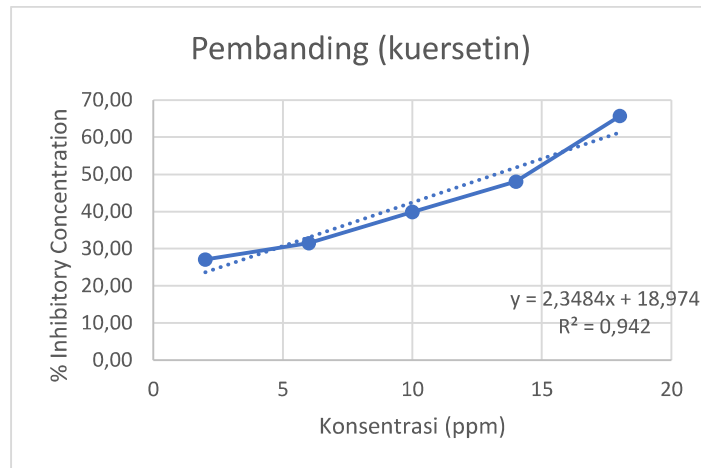




Perhitungan nilai IC_{50} SDS : $y = 0,4934x + 17,675$ $50 = 0,4934x + 17,675$ $x = \frac{50 - 17,675}{0,4934}$ $x = 65,515 \text{ ppm}$	Perhitungan nilai IC_{50} kuersetin : $y = 2,3659x + 16,357$ $50 = 2,3659x + 16,357$ $x = \frac{50 - 16,357}{2,3659}$ $x = 14,220 \text{ ppm}$
--	--

c. Data Replikasi 3

Kelompok	Konsentrasi (ppm)	A	%IC		
Kontrol DPPH	50	1,286			
Pembanding (kuersetin)	2	0,938	27,06	a	18,974
	6	0,881	31,49	b	2,348
	10	0,773	39,89	R^2	0,942
	14	0,667	48,13	r	0,971
	18	0,441	65,71	IC_{50}	13,212
Sampel (seduhan Daun Salam)	20	0,959	25,43	a	16,625
	40	0,822	36,08	b	0,515
	60	0,606	52,88	R^2	0,967
	80	0,560	56,45	r	0,983
	100	0,428	66,72	IC_{50}	64,831



Perhitungan nilai IC₅₀ SDS : $y = 0,5148x + 16,625$ $50 = 0,5148x + 16,625$ $x = \frac{50 - 16,625}{0,5148}$ $x = 64,831 \text{ ppm}$	Perhitungan nilai IC₅₀ kuersetin : $y = 2,3484 x + 18,974$ $50 = 2,3484 x + 18,974$ $x = \frac{50 - 18,974}{2,3484}$ $x = 13,212 \text{ ppm}$
--	--

Lampiran 8. Data Perhitungan Rata-rata % Inhibisi

Konsentrasi (SDS)	% Inhibisi			Rata-rata	SD
	R1	R2	R3		
20	28,88	25,43	25,43	26,58	1,991858429
40	37,73	40,28	36,08	38,03	2,116010397
60	48,76	47,43	52,88	49,69	2,841531277
80	53,03	56,69	56,45	55,39	2,047339737
100	60,95	66,56	66,72	64,74333333	3,286096976

Konsentrasi (Kuersetin)	% Inhibisi			Rata-rata	SD
	R1	R2	R3		
2	18,87	22,47	27,06	22,80	4,104960414
6	30,28	30,17	31,49	30,64666667	0,732416093
10	39,21	39,11	39,89	39,40333333	0,424421174
14	44,95	46,89	48,13	46,65666667	1,602789235
18	59,94	61,43	65,71	62,36	2,995313005

Lampiran 9. Analisis Dataa. Data Uji *Shapiro Wilk***Tests of Normality**

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai_IC50	SDS	.344	3	.	.840	3	.215
	K	.261	3	.	.958	3	.604

b. Data Uji *Independent T Test***Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Nilai_IC50	Equal variances assumed	7.584	.051	29.238	4	.000
	Equal variances not assumed			29.238	2.246	.001

Lampiran 10. Naskah Publikasi

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEDUHAN DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STEEPING SALAM LEAF (*Syzygium polyanthum*) USING DPPH METHOD

Roro Sadiyah, Erma Yunita *

Program Studi Diploma III Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta

e-mail: ermayunita@afi.ac.id

ABSTRAK

Daun salam memiliki kandungan kimia yaitu minyak atsiri, flavonoid, tanin dan metil kavicol (estragole), senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari seduhan daun salam.

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) secara spektrofotometri UV-Vis. Sampel yang diuji berupa serbuk sangat kasar simplisia daun salam yang dipreparasi dengan cara diseduh selama 30 menit menggunakan akuades panas sebanyak 100 ml dengan suhu 95°C sebagai suhu awal penyeduhan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan melihat penghambatan radikal DPPH. Daya aktivitas antioksidan dihitung dalam nilai persen inhibisi dan IC₅₀. Signifikansi perbedaan data hasil seduhan daun salam dan kuersetin dianalisis menggunakan SPSS 23 dengan uji *Independent T Test*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan pengujian menggunakan metode DPPH. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari sampel seduhan daun salam yaitu 66,91 ± 3,03 ppm dengan kategori kuat. Hasil nilai IC₅₀ sampel seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding kuersetin yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 14,04 ± 0,75 ppm dengan kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Daun Salam, Seduhan, Antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Salam leaves contain chemical compounds, namely essential oils, flavonoids, tannins and methyl kavicol (estragole), these compounds have antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of steeping salam leaves.

Antioxidant activity was tested using the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) by UV-Vis spectrophotometry. The sample tested was in the form of very coarse bay leaf simplicia powder which was prepared by brewing for 30 minutes using 100 ml of hot distilled water at 95°C as the initial brewing temperature. Testing of antioxidant activity was carried out by looking at the inhibition of DPPH radicals. The antioxidant activity was calculated in the percentage value of inhibition and IC₅₀. Significance of differences in the results of steeping salam leaves and quercetin was analyzed using SPSS 23.

The results showed that the steeping of salam leaves had antioxidant activity by testing

using the DPPH method. IC value₅₀ obtained from the steeped salam leaf sample, namely 66.91 ± 3.03 ppm in the strong category. IC value results₅₀ Samples of steeping salam leaves have lower antioxidant activity compared to quercetin, namely the IC₅₀ of 14.04 ± 0.75 ppm with a very strong category.

Keywords: Salam Leaves, Stewing, Antioxidants, DPPH

PENDAHULUAN

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal oleh masyarakat. Daun salam dapat digunakan dalam bentuk segar maupun kering (Silalahi, 2017). Masyarakat biasanya memanfaatkan daun salam sebagai bumbu penyedap dalam masakan dan dimanfaatkan juga sebagai obat tradisional (Harismah dan Chusniatun, 2016). Pembuatan obat tradisional daun salam dapat dibuat dalam bentuk seduhan (Saminan, 2015). Daun salam sering digunakan sebagai obat tradisional karena banyak memiliki kandungan kimia yang bermanfaat bagi tubuh.

Kandungan kimia yang terdapat pada daun salam yaitu minyak atsiri 0,2% (sitral, eugenol), flavonoid (katekin dan rutin), tanin dan metil kavicol (*methyl chavicol*) yang dikenal sebagai estragole atau *p-allylanisole*, senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Harismah dan Chusniatun, 2016). Senyawa flavonoid ini merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang mempunyai sifat antioksidatif. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu berupa kuersetin dan fluoretin (Siregar, 2015). Kuersetin merupakan senyawa yang sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan.

Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan yang sederhana dan cepat. Prinsip pengukuran antioksidan dengan metode DPPH yaitu jika terjadi pemudaran warna dari radikal DPPH akibat adanya antioksidan yang dapat menetralkan molekul radikal bebas. Radikal DPPH yang sebelumnya berwarna akan kehilangan warnanya jika terdapat antioksidan (Wulan dkk., 2019). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan melihat absorbansinya pada panjang gelombang maksimal (Jami'ah dkk., 2018). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan seduhan daun salam dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus dan ACIS), *blander* (Philips), ayakan nomor 8 (Gopas), ayakan nomor 60 (Gopas), gelas beker (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), *hot plate* (Maspion), batang pengaduk, kertas saring, corong kaca (Herma), tabung reaksi, *aluminium foil*, termometer, mikropipet (Smart), pipet tetes, labu ukur (Iwaki), *stopwatch* dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia daun salam, akuades, etanol p.a, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) dan kuersetin.

Jalannya Penelitian

Pembuatan Serbuk Sangat Kasar Daun Salam

Simplisia daun salam diperkecil ukurannya secara manual menggunakan tangan dan dengan *blander*, kemudian ditimbang sebanyak 25 gram. Daun salam yang sudah ditimbang selanjutnya diayak menggunakan ayakan 8 mesh yang tergolong kedalam kategori serbuk sangat kasar. Hasil ayakan yang dapat melewati ayakan nomor 8 tidak

boleh melewati ayakan nomor 60 dengan batas maksimal yang diperbolehkan yaitu 20% (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Pembuatan Sampel Seduhan Daun Salam

Sampel seduhan daun salam dibuat dengan menimbang serbuk sangat kasar daun salam sebanyak 2 gram. Sampel dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan akuades panas 95°C sebagai suhu awal penyeduhan sebanyak 100 ml. Penyeduhan dilakukan selama 30 menit dengan suhu akuades yang akan turun selama waktu penyeduhan. Hasil seduhan daun salam disaring menggunakan saringan dan kertas saring (Fadilah dkk., 2021).

Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 ml (100 ppm). Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan mengambil larutan DPPH yang telah dibuat sebanyak 50 ml dan diadddkan dengan etanol p.a sampai dengan 100 ml.

Pembuatan Larutan Stok Sampel

Larutan stok sampel 1000 ppm dibuat dengan mengambil 0,5 ml sampel seduhan daun salam dan diadddkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml. Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

Pembuatan Larutan Pembanding

Serbuk kuersetin ditimbang 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 10 ml (1000 ppm). Pembuatan larutan pembanding 100 ppm dilakukan dengan mengambil larutan pembanding (1000 ppm) sebanyak 1 ml dan diadddkan dengan etanol p.a sampai dengan 10 ml (Jasman dkk., 2021). Variasi konsentrasi yang dibuat yaitu 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm dan 18 ppm.

Pengukuran Antioksidan Blanko

Pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH dilakukan dengan mengambil 2 ml larutan DPPH, kemudian divorteks dan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021; Fadilah dkk., 2021).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Salam

Pengukuran aktivitas antioksidan seduhan daun salam dilakukan dengan mengambil 0,25 ml larutan seduhan daun salam dari berbagai konsentasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm). Masing- masing konsentrasi ditambahkan dengan DPPH sebanyak 1,75 ml dan kemudian larutan divorteks serta diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Kuersetin Sebagai Pembanding

Pengukuran aktivitas antioksidan kuersetin dilakukan dengan mengambil 0,25 ml kuersetin dari berbagai konsentasi (2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm, dan 18 ppm). Masing masing konsentrasi ditambahkan dengan DPPH sebanyak 1,75 ml dan kemudian larutan divorteks serta diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimal menggunakan Spektrofotometer UV- Vis (Jasman dkk., 2021).

Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu untuk data hasil pengukuran dalam bentuk absorbansi (A) dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dicari dari hasil persamaan regresi linear dalam bentuk $y = a + bx$. Nilai konsentrasi dari SDS dan pembanding kuersetin (nilai x) dan persen inhibisi sebagai nilai y. Setelah didapatkan persamaan regresi linernya, kemudian masukkan angka 50 pada nilai

y untuk mencari nilai x (nilai IC_{50}) (Jasman dkk., 2021). Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dikategorikan berdasarkan Tabel I.

Tabel I. Kategori Nilai IC_{50} (Salim, 2018)

Nilai IC_{50}	Kategori
≤ 50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
151-200	Rendah

Signifikasi hasil pengkategorian nilai IC_{50} sampel dan pembanding dianalisis normalitas menggunakan SPSS 23 dengan uji *Shapiro Wilk*. Data yang terdistribusi normal ditandai dengan nilai sig > 0,05 akan dilanjutkan dengan uji *Independen T Test* (uji tidak berpasangan).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal larutan DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada daerah panjang gelombang 400-800 nm mendapatkan hasil panjang gelombang maksimal 517 nm. Absorbansi sampel dan pembanding dicari menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (panjang gelombang maksimal 517 nm), hasil absorbansi tersebut kemudian digunakan untuk mencari nilai persen inhibisi. Hasil nilai rata-rata persen inhibisi dari 3 replikasi sampel seduhan daun salam dan pembanding kuersetin dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Nilai Persen Inhibisi Seduhan Daun Salam dan Kuersetin

Kelompok	Konsentrasi (ppm)	Nilai % Inhibisi
Seduhan Daun Salam	20	$26,58 \pm 1,99$
	40	$38,03 \pm 2,11$
	60	$49,69 \pm 2,84$
	80	$55,39 \pm 2,04$
	100	$64,74 \pm 3,28$
Kuersetin	2	$22,80 \pm 4,10$
	6	$30,64 \pm 0,73$
	10	$39,40 \pm 0,42$
	14	$46,65 \pm 1,60$
	18	$62,36 \pm 2,99$

Nilai persen inhibisi akan digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*). Nilai IC_{50} merupakan besar konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH (Widyasanti dkk., 2016). Nilai IC_{50} pada masing-masing kelompok dicari dari hasil persamaan regresi linear dalam bentuk $y = a + bx$ (Jasman dkk., 2021). Hasil persamaan regresi linear untuk seduhan daun salam yaitu $y = 0,3971x + 22,042$ (R1), $y = 0,4934x + 17,675$ (R2), $y = 0,5148x + 16,625$ (R3) dan hasil persamaan regresi linear kuersetin yaitu $y = 2,4204x + 14,445$ (R1), $y = 2,3659x + 16,357$ (R2), $y = 2,348x + 18,974$ (R3). Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan regresi linear masing-masing replikasi pada setiap kelompok mendapatkan hasil nilai IC_{50} . Hasil perhitungan nilai IC_{50} pada masing-masing replikasi setiap kelompok digunakan untuk mencari rata-rata nilai IC_{50} . Hasil perhitungan rata-rata nilai IC_{50} dari 3 kali replikasi pada setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Nilai IC₅₀ Seduhan Daun Salam dan Kuersetin

Kelompok	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Seduhan Daun Salam	66,91 ± 3,03
Kuersetin	14,04 ± 0,75

Hasil nilai IC₅₀ pada sampel seduhan daun salam yaitu 66,91 ± 3,03 ppm yang masuk kedalam kategori kuat dan nilai IC₅₀ pada pembanding kuersetin yaitu 14,04 ± 0,75 ppm yang masuk kedalam kategori sangat kuat. Berdasarkan hal tersebut sampel seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding kuersetin. Hasanah (2015) dalam penelitiannya juga menyatakan bahwa daun salam memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Hasil nilai IC₅₀ yang telah didapatkan dari sampel dan pembanding dianalisis normalitas menggunakan SPSS 23 dengan uji *Shapiro Wilk*. Hasil nilai sig dari kelompok sampel seduhan daun salam yaitu 0,215 dan kelompok pembanding kuersetin 0,604 (nilai sig >0,05). Nilai sig tersebut menandakan bahwa data terdistribusi normal. Dari hasil tersebut kemudian dilakukan uji *Independent T Test*. Hasil dari uji *Independent T Test* menyatakan bahwa pada bagian *Levene's Test* nilai sig >0,05 yaitu sebesar 0,051. Nilai sig tersebut menandakan bahwa varian data antara kelompok sampel seduhan daun salam dan kelompok pembanding kuersetin homogen. Nilai sig (2-tailed) jika < 0,05 yaitu sebesar 0,000 menandakan bahwa Ho ditolak dan Ha diterima. Berdasarkan data tersebut bahwa secara statistik terdapat perbedaan signifikan hasil nilai IC₅₀ antara kelompok sampel seduhan daun salam dan kelompok pembanding kuersetin.

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan pengujian menggunakan metode DPPH. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari sampel seduhan daun salam yaitu 66,91 ± 3,03 ppm yang tergolong kedalam kategori kuat. Hasil nilai IC₅₀ sampel seduhan daun salam memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding kuersetin yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 14,04 ± 0,75 ppm yang tergolong kategori sangat kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta atas dukungannya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Fadilah, N. N., Fitriana, A. S., dan Prabandari, R., 2021. Pengaruh Lama Waktu Penyeduhan dan Bentuk Sediaan Teh Herbal Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Aktivitas Antioksidan. Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (SNPPKM).383-389.
- Harismah, K., dan Chusniatun., 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal dan Rempah Penyedap Makanan. *WARTA LPM*. 19 (2): 110-118.
- Hasanah, N., 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam. *JURNAL PENA MEDIKA*. 5 (1): 55-59.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., dan Nurhikma, E., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 4 (1): 34-38.

- Jasman, H., Rahmawati, A., dan Herli, A. M., 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Etanol Limbah Ketapang (*Terminalia catappa*) dengan Metode DPPH. *JOURNAL OF PHARMACY SCIENCE AND PRACTICE*. 8 (1): 8-12.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Salim, R., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhidrazil*). *Jurnal Katalisator*. 3 (2): 153-161.
- Saminan ., 2015. Nilai Spirometri Penderita Batuk Setelah Minum Seduhan Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Sebagai Obat Tradisional. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 23 (1): 28-34.
- Silalahi, M., 2017. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan). *J D P*. 10 (1): 1-16.
- Siregar, R. N. 2015. The Effect Of *Eugenia polyantha* Extract On LDL cholesterol. *J MAJORITY*. 4 (5): 85-92.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D., dan Ekatama, N., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (*2,2 Difenil -1- Pikrilhidrazil*). *FORTECH*. 1 (1): 3-9.
- Wulan, Yudistira, A., dan Rotinsulu, H., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun *Mimosa pudica* Linn. Menggunakan Metode DPPH. *PHARMACON*. 8 (1): 106-113.