



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA

Jalan Prof. Sudarto, S.H Tembalang Semarang
Kode Pos 50275
Telp (024) 7474754 Fax (024) 76480690
Laman <https://fsm.undip.ac.id/>
e-mail fsm@undip.ac.id

SURAT PENUGASAN
PELAKSANAAN KEGIATAN PENELITIAN
SUMBER DANA SELAIN APBN FAKULTAS SAINS & MATEMATIKA UNDIP
TAHUN ANGGARAN 2020
Nomor : 2061 /UN7.5.8/PP/2020

Pada hari ini **SENIN** tanggal **DUA** bulan **MARET** tahun **DUA RIBU DUA PULUH** kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. **Prof. Dr. Widowati, S.Si.** : Dekan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, bertindak dalam jabatan untuk dan atas nama Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang, berkedudukan di jalan Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**.
2. **Dr. Bambang Cahyono,M.S** : Dosen di Departemen Kimia Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro sebagai Ketua Peneliti yang selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

Berdasarkan SK Dekan Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro nomor : 944/UN7.5.8/HK/2020 tanggal 28 Februari 2020, tentang penetapan pendanaan kegiatan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Tahun Anggaran 2020, **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Penugasan Pelaksanaan kegiatan Penelitian dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagaimana diatur dalam pasal-pasal sebagai berikut:

Pasal 1

Pelaksanaan Penugasan

- (1) **PIHAK PERTAMA** menugaskan kepada **PIHAK KEDUA** untuk melaksanakan Penelitian dengan tim peneliti, Judul Penelitian, Fakultas sebagai berikut :

Tim Peneliti	Judul	Departemen
1. Dr. Meiny Suzery,M.S	Senyawa Fenolat dari Tanaman Sumber Antioksidan	Kimia

- (2) **PIHAK PERTAMA** menyerahkan dana Penelitian sebagaimana dimaksud dalam ayat (1) sebesar **Rp.20.000.000,- (Dua puluh juta rupiah)** melalui sumber dana selain APBN DPA SUKPA Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Tahun Anggaran 2020, kepada **PIHAK KEDUA**;
- (3) **PIHAK KEDUA** bertanggung jawab penuh atas Pelaksanaan Penelitian, pengadministrasian, pembelanjaan dan pelaporan keuangan pekerjaan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) sesuai dengan ketentuan yang berlaku;
- (4) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengembalikan sisa dana yang tidak dibelanjakan kepada Bendahara Penerimaan Universitas Diponegoro melalui **PIHAK PERTAMA**;
- (5) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) maka **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana sebagaimana yang disebutkan ayat (2) kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 2

Cara Pembayaran dan Mekanisme Pencairan Dana

PIHAK PERTAMA memberikan Dana Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:

- a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 75% dari total dana Penelitian yaitu $75\% \times \text{Rp.}20.000.000,- = \text{Rp.}15.000.000,- (\text{Lima belas juta rupiah})$, setelah **PIHAK KEDUA** mengumpulkan dokumen sebagai berikut: Dua eksemplar proposal pelaksanaan Penelitian yang didalamnya telah meliputi Rencana anggaran belanja (RAB) 100% Hard Copy (Soft Cover Laminating) dijilid tanpa lakban, adapun warna cover menyesuaikan dengan scheme sebagaimana telah disebutkan dalam panduan penelitian FSM UNDIP;
- b. Pembayaran Tahap kedua (akhir) sebesar 25% dari total dana Penelitian yaitu $25\% \times \text{Rp.}20.000.000,- = \text{Rp.}5.000.000,- (\text{lima juta rupiah})$, setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan dokumen sebagai berikut :
 1. Tiga eksemplar Hard Copy Laporan kemajuan pelaksanaan kegiatan penelitian;
 2. Dua eksemplar Hard Copy Laporan penggunaan dana 100 %
 3. Tiga eksemplar Hard Copy Laporan Akhir dalam bentuk *hardcopy*
 4. Satu berkas Hard Copy Dokumen Luaran penelitian sesuai yang dijanjikan
 5. Soft Copy point b angka 1-4 dicopy kedalam CD RW

Pasal 3

Pembayaran Melalui Rekening PIHAK KEDUA

- (1) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 tersebut dibayarkan melalui rekening atas nama **PIHAK KEDUA** pada bank yang ditunjuk oleh **PIHAK PERTAMA**;
- (2) **PIHAK KEDUA** memberikan kuasa penuh kepada **PIHAK PERTAMA** untuk melakukan blokir saldo sejumlah dana yang telah dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** apabila **PIHAK KEDUA** belum memenuhi segala kewajiban dan persyaratan pencairan;
- (3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggungjawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud dalam ayat 1 tersebut yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam memberikan data rekening.

Pasal 4

Luaran Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban memenuhi luaran sesuai dengan Buku Panduan Pelaksanaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro yang berlaku dan telah disesuaikan dengan Surat Edaran Rektor UNDIP;
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyebarluaskan hasil Penelitian dengan cara diseminarkan, dipublikasikan dan/atau dipatenkan, kecuali hasil Penelitian yang bersifat rahasia atau alasan lainnya;
- (3) Hak kepemilikan Luaran Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dan ayat (2) adalah milik Universitas Diponegoro;

Pasal 5

Monitoring dan Evaluasi Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** wajib menyampaikan Laporan Kemajuan Pelaksanaan Kegiatan Penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** sesuai dengan Buku Panduan Pelaksanaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Diponegoro yang berlaku;
- (2) **PIHAK PERTAMA** berhak melakukan Monitoring dan Evaluasi Pelaksanaan Penelitian yang telah dilaksanakan **PIHAK KEDUA**;
- (3) Penyampaian Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian dan jadwal Monitoring dan Evaluasi Penelitian ditentukan lebih lanjut oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 6

Pelaporan Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** wajib membuat Laporan kemajuan dan laporan akhir hasil pelaksanaan penelitian;
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyampaikan Laporan Keuangan 100% kepada **PIHAK PERTAMA** selambat-lambatnya sejak tanggal 1- 30 Oktober 2020.
- (3) Laporan akhir hasil pelaksanaan Penelitian diserahkan **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK PERTAMA** pada jam kerja selambat-lambatnya pada tanggal 19-30 Oktober 2020.
- (4) Laporan akhir hasil pelaksanaan penelitian wajib memenuhi persyaratan sebagai berikut :
 - a) Laporan diketik dengan huruf Times New Roman Font 12, spasi 1,5;
 - b) Bentuk/ ukuran kertas kwarto A4;
 - c) Warna cover sesuai dengan skema dalam buku panduan yang berlaku;
 - d) Untuk hard copy dijilid SCL (Soft Cover Laminating);

Pasal 7

Perubahan Susunan tim pelaksana Penelitian

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi Pelaksanaan Penelitian dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro.

Pasal 8

Pelanggaran Kode Etik Ilmiah

- (1) Pengusulan dan Pelaksanaan Penelitian harus berdasarkan kode etik ilmiah;
- (2) Apabila dikemudian hari ternyata judul Penelitian sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 ditemukan adanya pelanggaran kode etik ilmiah, maka kegiatan Penelitian tersebut dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana yang telah diterima.

Pasal 9

Kepemilikan Hasil Penelitian

- (1) Hak Kekayaan Intelektual (HKI)/Paten yang dihasilkan dari Pelaksanaan Penelitian menjadi milik Universitas Diponegoro, diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan dan perundang-undangan yang berlaku ;
- (2) Hasil kegiatan Penelitian berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik Universitas Diponegoro dengan tanda bukti penandatanganan Berita Acara penyerahan barang antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** ;
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan bukti kepemilikan HKI hasil penelitian kepada **PIHAK PERTAMA**

Pasal 10

Sanksi/Denda

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditentukan, **PIHAK KEDUA** belum memenuhi kewajibannya maka dapat dikenakan sanksi oleh **PIHAK PERTAMA**;
- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** belum dapat menyelesaikan pekerjaan berdasarkan jangka waktu yang telah ditetapkan dalam surat penugasan ini, maka dikenakan denda oleh **PIHAK PERTAMA**

Pasal 11

Penyelesaian Perselisihan

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian ini, akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat, sekiranya tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum dengan memilih tempat di Pengadilan Negeri Semarang, sebagai upaya hukum tingkat pertama dan terakhir;

Pasal 12

Jangka waktu penelitian

Surat Penugasan ini berlaku sejak ditandatangani antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** sampai dengan tanggal 30 Oktober 2020.

Pasal 13

Adendum dan Penutup

- (1) Hal-hal yang belum diatur dalam Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian ini diatur kemudian antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** yang akan dituangkan dalam bentuk adendum dan merupakan bagian tak terpisahkan dari surat penugasan ini;
- (2) Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) dan bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

PIHAK KEDUA



Dr. Bambang Cahyono, M.S
NIP 196303161988101001

PIHAK PERTAMA



Prof. Dr. Widowati, S.Si., M.Si.
NIP 196902141994032002

LAPORAN RISET MADYA



Judul Penelitian

**SENYAWA FENOLAT DARI TANAMAN
SUMBER ANTIOKSIDAN**

Tim Peneliti

Ketua : Dr. Bambang Cahyono, M.S. NIDN. 0016036303
Anggota: Dr. Meiny Suzery, M.S. NIDN. 0010056003

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2020**

LAPORAN RISET MADYA FSM UNDIP

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1. Judul Penelitian | : Senyawa Fenolat dari Tanaman Sumber Antioksidan |
| 2. Bidang Ilmu | : Kimia |
| 3. Ketua Peneliti | |
| a. Nama Lengkap | : Dr. Bambang Cahyono, M.S. |
| b. NIP/ NIDN | : 196303161988101001.0016036303 |
| c. Fakultas / Departemen / Lab | : FSM/ Kimia/ Kimia Organik |
| d. Pusat Penelitian | : Laboratorium Organik |
| e. Telpon/ Faks (Kantor) | : (024)76480824/ (024)74600033 |
| f. Telpon/ Faks (Rumah) | : (024)7476852 |
| g. hp/ E-mail | : 08122506527/
cahyono@live.undip.ac.id |
| 4. Jumlah anggota peneliti | : 1 (1) orang |
| 5. Jangka waktu penelitian | : Satu (1) tahun |
| 6. Lokasi Penelitian | : Departemen Kimia FSM Undip |
| 7. Biaya yang diperlukan | : Rp. 20.000.000,- |

Semarang, Nopember 2020

Mengetahui,
Ketua Departemen Kimia FSM
UNDIP

Ketua Peneliti,

(Dr. Dwi Hudiyanti M.Sc)
NIP 196506221989032001

(Dr. Bambang Cahyono, MS)
NIP. 196303161988101001



Senyawa Fenolat dari Tiga Tanaman

Sumber Antioksidan

RINGKASAN

Latar Belakang. Analisis kandungan senyawa bioaktif dari suatu bahan obat tradisional harus sensitive, spesifik, dan mempunyai keakuratan yang tinggi. Senyawa bioaktif yang akan dianalisis harus juga terbebas dari interferensi senyawa lain. Hanya sedikit standar di Indonesia yang memanfaatkan keberadaan senyawa bioaktif untuk menstandarisasi produk tanaman. SNI hanya menggunakan spektrofotometri UV untuk analisis kadar piperin dalam produk lada, sedangkan farmakope herbal Indonesia hanya mengenal Thin Layer Chromatography (TLC) untuk mengetahui keberadaan senyawa penanda. Metode untuk menghasilkan data mengenai keberadaan dan jumlah senyawa bioaktif dalam tanaman Indonesia sangat penting dikembangkan agar nilai manfaat, toksitas atau mekanisme kerja dari suatu herba dapat dijelaskan atau diprediksi.

Tujuan. Dalam penelitian ini akan dilakukan komparasi analisis mengenai kandungan senyawa senyawa bioaktif dengan menggunakan spektrofotometri UV/VIS, dan HPTLC terhadap daun meniran (*Phyllanthus niruri*) dan daun kersen (*Muntingia calabura L*). Analisis antioksidan dari lengkuas merah dengan UV/VIS dan HPLC juga dilakukan.

Metode. Mayoritas penelitian akan dilakukan dengan mengoptimalkan peralatan yang tersedia di Universitas Diponegoro. Semua ekstraksi akan dilakukan dengan Soxhlet dalam pelarut etanol selama 8 jam. Spektrum UV.vis direkam antara 200-800 nm menggunakan pelarut etanol dan panjang gelombang maksimum dari senyawa bioaktif sebagai senyawa penanda, untuk kemudian dibuat regresi liniernya. Analisis Analisis kandungan senyawa penanda dari tiga bahan alam dengan HPTLC juga akan dilakukan dengan standart eksternal, menggunakan detektor UV/VIS. Harga Retention faktor (R_f) yang ditunjukkan oleh senyawa penanda akan disesuaikan dengan pola pemisahan terbaik hasil elusi ekstrak pada berbagai eluen. Terhadap lengkuas merah dilakukan UV Vis dan HPLC sesuai dengan eluen yang diterapkan.

Hasil dan Pembahasan..

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas peredaman radikal senyawa murni kursetin adalah sama untuk kedua metode, masing-masing IC₅₀=17,05ppm untuk metode spektrofotometri dan IC₅₀= 15,74ppm untuk metode HPLC. Meskipun demikian, harga aktivitas tersebut akan jauh berbeda untuk ekstrak. Sampel uji ekstrak lengkuas merah memberikan IC₅₀= 488,43±1,13 ppm (metode spktrofotometri) dan IC₅₀ sebesar 68,12±10,19 ppm (dengan HPLC). Aktivitas peredaman radikal ekstrak lengkuas putih dengan metode spektrofotometri IC₅₀ sebesar 462,89±5,38 ppm dan dengan HPLC menunjukkan IC₅₀= 62,17±3,87 ppm. Dugaan adanya interferensi molekul lain dalam analisis peredaman radikal terhadap

ekstrak ini telah menghasilkan suatu kesimpulan bahwa metode HPLC lebih baik digunakan dalam analisis antioksidan dibanding spektrofotometri untuk sampel uji berupa ekstrak.

Kesimpulan : Analisis antioksidan dengan spektroskopi UV/Vis memiliki nilai yang lebih tinggi daripada hasil yang ditunjukkan oleh HPLC

Key-words: *Petroselinum crispum*, *Phyllanthus niruri*, *Muntingia calabura L.*

BAB I. PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Senyawa fenolik mengandung sistem konjugasi aromatik yang menyerap cahaya di wilayah spektral UV-Vis sehingga memungkinkan deteksi dengan detektor UV-Vis. Kemampuan cincin fenolat menyerap sinar UV dan fakta bahwa beberapa fenolat yang merupakan senyawa berwarna yang menunjukkan serapan di daerah visible membuat spektroskopi UV-Vis menjadi teknik yang cocok untuk menentukan kuantitas senyawa fenolat (Aleixandre and du Toit, 2018)

Penggunaan spektrofotometer UV untuk menganalisis kadar senyawa fenolat menggunakan metode Folin-Ciocalteu dilakukan sejak tahun 1965 (Singleton, 1965) sampai dengan sekarang (Genc et al., 2019). Analisis Total Phenolic Content (TPC) yang dilakukan berdasarkan Folin-Ciocalteu Micro Test Method menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm. Senyawa phospho-molibdic tungstate dalam reagen Folin-Ciocalteu diperkirakan akan bereaksi dengan senyawa pereduksi membentuk senyawa kompleks yang mengubah warna kuning menjadi biru (Singleton et al., 1999). TPC dari setiap sampel dinyatakan sebagai setara mg tannic acid (TAE) per 1 g ekstrak.

Identifikasi dan kuantisasi senyawa fenolik juga dapat dilakukan dengan alat HPLC (High Performance Liquid Chromtography), seperti yang dilakukan oleh Alasalvar (2001). Rasio absorbansi UV setelah injeksi bersama sampel dan standar dihitung. Setiap senyawa fenolat diukur berdasarkan daerah puncak melalui perbandingan dengan kurva kalibrasi yang diperoleh dengan standar yang sesuai (Alasalvar et al., 2001).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenolik dengan massa relatif rendah yang ada di sebagian besar tanaman. Flavonoid merupakan senyawa berwarna yang memiliki pita serapan khusus di wilayah UV-VIS dan dapat dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri (Kasprzak et al., 2015). Spektra UV-Vis flavonoid terdiri dari serapan maksimum sekitar 240–290 nm

(Band II = pita benzoil) dan sekitar 300-550 nm (Band I = pita cinnamoil). Penentuan senyawa flavonoid ini secara umum dilakukan dengan cara spektrofotometri yang dilakukan sejak tahun 1991(Lamaison, 1991) sampai dengan sekarang (Das et al., 2019). Penentuan total flavonoid juga dilakukan dengan metode kolorimetri dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Wang et al., 2012; Zeraik dan Yariwak, 2012; Fu et al., 2012; Marques et al., 2013).

Beberapa studi melaporkan ada korelasi positif antara total senyawa fenolat (TPC=Total Phenolic Content), total senyawa falvonoid (TFC = Total Flavonoid Content) dengan aktivitas antioksidan pada berbagai tanaman obat (yang diekstraksi dengan air atau metanol). Kadar fenolat yang tinggi memberikan bioaktivitas antioksidasi dari ekstrak tanaman tersebut (Waras Nurcholis, 2012). Gugus fungsi hidroksil pada flavonoid memberikan efek antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan / atau dengan chelating ion logam (Rice-Evans et al., 1996).

Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L) sering digunakan sebagai pohon peneduh. Penggunaannya sebagai obat dan pangan masih minim karena pengetahuan mengenai manfaatnya belum diketahui secara luas. Penelitian yang dilakukan Preethi, 2010 menyatakan bahwa IC50 antioksidan dalam ekstrak buah kersen dengan pelarut metanol menggunakan metode DPPH UV-Vis sebesar $90 \pm 0.04 \text{ } \mu\text{g/mL}$. Sementara penelitian Buhian (2017) menunjukkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun dan batang menggunakan metode DPPH UV-Vis menunjukkan penghambatan DPPH dengan nilai yang relatif tinggi di atas 90%. Ekstrak etanol daun menunjukkan penghambatan $(99,1 \pm 2,5)\%$, relatif terhadap 4 mg / mL kontrol positif asam galat. Ekstrak etanol batang secara signifikan lebih rendah pada penghambatan $(93,9 \pm 2,2)\%$ (Buhian et al., 2017). Maka bisa dikatakan daun dan batang *Muntingia calabura* L telah menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, keduanya digunakan secara tradisional dalam mengobati berbagai penyakit.

Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) merupakan gulma yang tersebar luas di Indonesia yang beriklim tropis. *Phyllanthus niruri* Linn. merupakan famili Euphorbiaceae yang di Indonesia dikenal sebagai "meniran". Dalam

penelitian Mediani, 2015 diperoleh nilai IC₅₀ sampel 10 minggu dari *Phyllanthus niruri* dan *Phyllanthus urinaria* masing-masing 17.35 and 28.40 µg/ml (Mediani et al., 2015).

Papay (2012) menyatakan flavonoid utama dalam peterseli (*Petroselinum crispum*) adalah apigenin dan glikosidanya, yang banyak terdapat di daun (Pápay et al., 2012). Penelitian Zang (2006) menyatakan bahwa pada minyak esensial peterseli, senyawa yang dominan adalah myristicin (32.75%), apiol (17.54%), a-pinene (16.64%), b-pinene (11.54%) and 1-allyl-2,3,4,5-tetramethoxy-benzene (10.00%) (Zhang et al., 2006). Sedangkan nilai total senyawa polifenolat yang diukur dengan standard catekol pada ekstrak metanol daun peterseli adalah 35,60 mg/g dan nilai total flavonoid yang dianalisis dengan teknik kolorimetri AlCl₃ dengan standar quercetin 25,12 mg/g (Trifunschi, 2012).

Penelitian mengenai pengujian total fenolik dan total flavonoid terhadap ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura L*) yang telah dilakukan tersebut masih menggunakan metode UV-Vis. Untuk mendapatkan hasil analisis yang lebih akurat, maka perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode HPLC.

Selanjutnya, senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman-tanaman tersebut perlu pula diteliti. Kandungan senyawa bioaktif diduga memiliki hubungan yang erat dengan total fenolat dan total flavonoid dalam tanaman. Dalam penelitian ini juga akan dianalisis kandungan senyawa bioaktif dari ketiga tanaman tersebut.

I.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan masalah yang telah disampaikan di atas, maka rumusan masalah dapat diajukan dengan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana perbandingan hasil analisis Total Phenolat menggunakan metode Spektrofotometri dengan metode HPLC pada ekstrak daun tanaman herbal

- meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L)?
2. Berapa hasil antioksidant yang ditunjukkan oleh spektroskopi UV/Vis dengan HPLC dari ekstrak tanaman lengkuas merah dan lengkuas putih?

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan membandingkan aktivitas Antioksidan menggunakan metode Spektrofotometri dengan metode HPTLC pada ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L). Penelitian ini juga membandingkan aktivitas antioksidan dari lengkuas dengan spektroskopi UV/VIS dan HPLC.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Pengenalan Secara Umum terhadap Tanaman Herbal obyak penelitian

Tanaman herbal yang digunakan dalam pengobatan seringkali mempunyai senyawa fenolat dan flavonoid dalam konsentrasi yang tinggi. Beberapa tanaman yang di Indonesia bisa digunakan dalam pengobatan adalah peterseli, daun meniran dan daun kersen.

2. 1.1. Peterseli

Peterseli atau "Petroselinum crispum" spesies tanaman berbunga dalam keluarga Apiaceae, asli daerah Mediterania tengah. Klasifikasi ilmiah tanaman Petroselinum crispum ini adalah: Kingdom : Plantae; Divisi : Magnoliophyta; Kelas : Magnoliopsida; Ordo : Apiales; Family : Apiaceae; Genus : Petroselinum; Spesies: Petroselinum crispum.

Peterseli merupakan tanaman berwarna hijau terang yang termasuk keluarga Apiace. Tanaman yang dibudidayakan secara luas di daerah tropis, subtropis, dan beriklim sedang. Ini adalah tanaman dua tahunan yang banyak dibudidayakan sebagai tanaman tahunan. Tanaman ini banyak dibudidayakan sebagai ramuan, rempah - rempah, dan sayuran. Namanya berasal dari kata Yunani yang berarti "seledri batu" (peterseli adalah keluarga seledri). Selain sebagai sayuran dan hiasan, peterseli juga digunakan untuk tujuan pengobatan. Berbagai senyawa dari fitokimia telah diidentifikasi terdapat dalam Peterseli. Demikian juga aktivitas farmakologisnya. Secara tradisional, akar P. crispum telah digunakan sebagai diuretik, bijinya digunakan sebagai antimikroba, antiseptik, antispasmodik, dan dalam pengobatan gangguan pencernaan, peradangan, halitosis, batu ginjal, dan amenore. Daun P. crispum telah digunakan dalam pengobatan wasir, gangguan pencernaan, diuretik, dan sebagai bahan penyedap makanan selain penggunaannya yang umum sebagai sayuran. P. crispum telah ditemukan memiliki banyak efek farmakologis termasuk, antioksidan, antibakteri, anti jamur,

hepatoprotektif, antidiabetik, analgesik, spasmolitik, imunosupresan, dan sifat gastroprotektif(Agyare et al., 2017).

Papay (2012) menyatakan flavonoid utama dalam peterseli adalah apigenin dan glikosidanya, yang banyak terdapat di daun. (Pápay et al., 2012). Penelitian Zang (2006) menyatakan bahwa pada minyak esensial peterseli, senyawa yang dominan adalah myristicin (32.75%), apiol (17.54%), a-pinene (16.64%), b-pinene (11.54%) and 1-allyl-2,3,4,5-tetramethoxy-benzene (10.00%) (Zhang et al., 2006). Sedangkan nilai total senyawa polifenolat yang diukur dengan standard catecol pada ekstrak metanol daun peterseli adalah 35.60 mg/g dan nilai total flavonoid yang dianalisis dengan teknik kolorimetri AlCl₃ dengan standar quercetin 25.12 mg/g.(Trifunschi and 2012).

2.1.2. Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.)

Phyllanthus niruri Linn. adalah gulma tahunan dan lapang yang tersebar luas di daerah beriklim sedang dan tropis (Iizuka et al., 2006). *P. niruri* Linn. dari keluarga Euphorbiaceae, di Indonesia dikenal sebagai "meniran". Klasifikasi tanaman *Phyllanthus niruri* Linn. ini adalah: Kingdom: Plantae; Divisi: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Euphorbiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: *Phyllanthus* ; Spesies: *Phyllanthus niruri* L.

Phyllanthus niruri Linn. memiliki kadungan fitokimia yang variasinya luas serta mempunyai sifat farmakologis. Senyawa aktif fitokimia, flavonoids, alkaloids, terpenoids, lignans, polyphenols, tannins, coumarins and saponins, telah diidentifikasi terdapat dalam *Phyllanthus niruri* Linn. Ekstrak herbal ini telah terbukti mempunyai efek terapeutik dalam banyak studi klinis. Beberapa sifat terapeutik yang paling menarik termasuk anti-hepatotoksik, anti-litik, anti-hipertensi, anti-HIV dan anti-hepatitis B.(Bagalkotkar et al., 2006). *Phyllanthus niruri* Linn. memiliki sejarah panjang dalam sistem pengobatan herbal seperti Ayurveda India, Pengobatan Tradisional Tiongkok dan Jamu Indonesia. *Phyllanthus niruri* Linn. telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak tanaman ini telah dievaluasi dalam uji coba manusia untuk pengobatan hipertensi, penyakit kuning, diabetes, hiperkalsiuria dan urolitiasis. Flavonoid dari

Phyllanthus niruri Linn. menunjukkan aktivitas antioksidan dan alkaloid menunjukkan aktivitas anti-spasmodik(Harish and Shivanandappa, 2006). Penelitian (Mediani et al., 2015) menunjukkan nilai TPC *Phyllanthus niruri* Linn. usia 10 minggu dengan metode UV-Vis adalah 0.159 mg GAE/mg. Sedangkan nilai IC₅₀ menggunakan metode DPPH-UV Vis 17.35 µg/ml.

.1.3. Kersen (*Muntingia calabura*)

Tanaman *Muntingia calabura* di Indonesia sebagai kersen atau talok. Kedudukan Taksonomi Daun Kersen adalah: Kingdom: Plantae; Divisi : Spermatophyta; Subdivisi : Angiospermae; Kelas : Dicotyledoneae; Ordo: Malvales/Columniferae ; Famili : Elaeocarpaceae ; Genus: Muntingia; Spesies : *Muntingia calabura*. Tanaman ini mudah dijumpai di pinggir jalan daerah tropis. Pohon kersen selalu hijau terus menerus, berbunga dan berbuah sepanjang tahun.

Metabolit sekunder sebagai konstituen kimia telah diisolasi dari daun, batang dan akar *Muntingia calabura*. Flavonoid merupakan konstituen utama penyusun metabolit sekunder dari tanaman ini. Kelompok flavonoid telah dilaporkan memiliki efek farmakologi yang baik. Beberapa literatur melaporkan bioaktivitas *Muntingia calabura* sebagai antioksidan, antidiabetes, antimikroba, antikanker, anti-inflamasi dan lain-lain. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Preethi (2010) buah kersen memiliki aktivitas antioksidan dan ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak petroleum eter, kloroform, etil asetat, dan butanol (Preethi et al., 2010).

Penelitian Aruna Sindhe (2013) menyatakan nilai total fenolat, total flavonoid dan IC₅₀ (metoda DPPH dengan kontrol BHA) pada ekstrak etanol daun *Muntingia calabura* sebesar (33,33 ± 0,13 µg GAE / mg), 123,31 ± 0, 54 µg CHE / mg dan 79.96±0.91 µg / mL.(Aruna Sindhe M and A, 2013)

2.2. Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat terbentuk sebagai salah satu kelompok utama metabolit sekunder dengan beragam struktur dan fungsi, tetapi umumnya memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksi (Robards et al., 1999). Senyawa metabolit sekunder tanaman ini berperan penting dalam pertumbuhan, reproduksi, perlindungan terhadap patogen dan predator (Bravo, 1998), serta berkontribusi pada warna dan sifat sensorik buah dan sayuran (Alasalvar et al., 2001). Senyawa fenolat dapat dikategorikan dalam beberapa kelompok seperti terlihat dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Kelompok senyawa fenolat dalam tanaman (Harborne et al., 1999).

Kelompok	Struktur
Fenolat sederhana, benzoquinon	C ₆
Asam hidroksibenzoat	C ₆ – C ₁
Asetophenon, asam phenilasetat	C ₆ – C ₂
Asam hidroksinamat, fenilpropanoat (kumarin, isokumarin)	C ₆ – C ₃
Naphtoquinon	C ₆ – C ₄
Xanthone	C ₆ – C ₁ – C ₆
Stilbene, antraquinon	C ₆ – C ₂ – C ₆
Flavonoid, isoflavonoid	C ₆ – C ₃ – C ₆
Lignan, neolignan	(C ₆ – C ₃) ₂
Biflavonoid	(C ₆ – C ₃ – C ₆) ₂
Lignin	(C ₆ – C ₃) _n
Condensed tannin (proantosianidin atau flavolan)	(C ₆ – C ₃ – C ₆) _n

Semua senyawa fenolat mengandung sistem konjugasi aromatik yang menyerap cahaya di wilayah spektral UV-vis sehingga memungkinkan deteksi dengan detektor UV-vis. Detektor UV-vis tradisional hanya memonitor satu atau beberapa panjang gelombang pada saat yang bersamaan, sedangkan diode array

detector (DAD) secara bersamaan mengukur kisaran panjang gelombang (mis., 200–500 nm), yang memungkinkan pengukuran spektrum UV-vis senyawa fenolik. Kemampuan cincin fenolat menyerap sinar UV dan fakta bahwa beberapa fenolat yang merupakan senyawa berwarna yang menunjukkan serapan di daerah visible membuat spektroskopi UV-Vis menjadi teknik yang cocok untuk menentukan kuantitas senyawa fenolat (Aleixandre and du Toit, 2018). Deteksi senyawa ini biasanya didasarkan pada serapan ultraviolet atau sinar tampak pada beberapa variasi panjang gelombang seperti tampak pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Absorpsi spektra pada beberapa kelompok senyawa fenolat (Robards et al., 1999)

Kelompok senyawa	Pita II UV ^a	Pita I UV ^a	Visibel ^a
Asam benzoat	270 – 280		
Asam sinamat	(290 – 300) ^b	305 – 330	
Pigmen antosianat	240 - 280	(315 – 325) ^c	450 – 560
Flavonol	250 – 270	(300) ^b 350 – 380	
Flavonol	270 – 280		
Kumarin	220 – 230	310 – 350	
Flavon	250 – 270	330 – 350	
Flavanon,	270 – 295	(300 – 330) ^b	
Flavanonols			
Chalcones	220 – 270	(300 – 320) ^b	
		340 – 390	
Auron	240 – 270		340 - 370
Isoflavon	245 – 270	300 - 340	

^a pelarut metanol kecuali metanol-HCl untuk antosianin

^b bahan

^c asilasi oleh asam sinamat

Penggunaan spektrofotometer UV untuk menganalisis kadar senyawa fenolat menggunakan metode Folin-Ciocalteu sudah dilakukan sejak tahun 1965 (Singleton, 1965). Metode ini didasarkan pada kemampuan reagen Folin-Ciocalteu untuk bereaksi kuat dengan senyawa fenolik. Reagen Folin-Ciocalteu mengandung molidenum VI, merupakan campuran dua asam, yaitu asam fosfotungstik ($H_3PW_{12}O_{40}$) dan asam fosfomolibdat ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Reagen ini bereaksi dengan zat fenolik mono dan dihidroksilasi, karena kemampuannya yang tinggi untuk menyumbangkan elektron. Reduksi ion Mo^{6+} menjadi kompleks Mo^{5+} yang berwarna biru dan dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm (Huang et al., 2005) atau 750 nm (Singleton, 1965). Campuran reagen Folin-Ciocalteu stabil dalam asam namun tidak stabil dalam basa. Oleh karena itu diperlukan Na_2CO_3 untuk memberikan suasana basa pada saat reaksi.

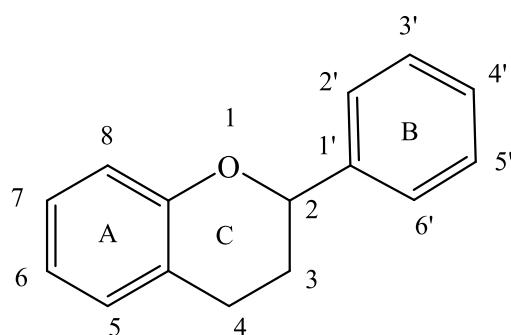
Pada analisis dengan metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography), berdasarkan fitur spektralnya, senyawa fenolat dapat dikuantifikasi pada serapan maksimum, yaitu pada 280 nm untuk monomer dan polimer flavanol dan beberapa asam fenolik, 320 nm untuk asam hidroksisinamat, 360 nm untuk flavonol dan akhirnya 520 nm untuk anthocyanin. Kelompok fenol polimer dan pigmen biasanya diidentifikasi sebagai pita serapan luas pada waktu elusi berikutnya, pada 280 nm untuk fenol polimer dan pada 520 nm untuk pigmen polimer. Komposisi pita serapan luas diamati pada 520 nm secara teoritis dikaitkan dengan bahan pigmen polimer (Aleixandre and du Toit, 2018).

2.3. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenolik dengan massa relatif rendah yang ada di sebagian besar tanaman. Setiap tanaman mengandung kombinasi flavonoid yang unik, itulah sebabnya pada herbal yang berbeda, akan memiliki efek yang sangat berbeda pada tubuh (Hanneken et al., 2006). Sumber alami utama flavonoid termasuk teh hijau, anggur (anggur merah), apel, kakao (cokelat), ginkgo biloba, kedelai, temulawak, berry, bawang merah, brokoli, dll.

Flavonoid terdiri dari sekelompok besar senyawa polifenol yang memiliki struktur benzo- γ -pyrone dan terdapat di dalam tanaman. Senyawa ini disintesis

melalui jalur fenilpropanoid. Struktur flavonoid didasarkan pada kerangka lima belas karbon yang terdiri dari dua cincin benzena (A dan B seperti ditunjukkan pada Gambar 2.1.) yang dihubungkan melalui cincin pyrane heterosiklik (C).

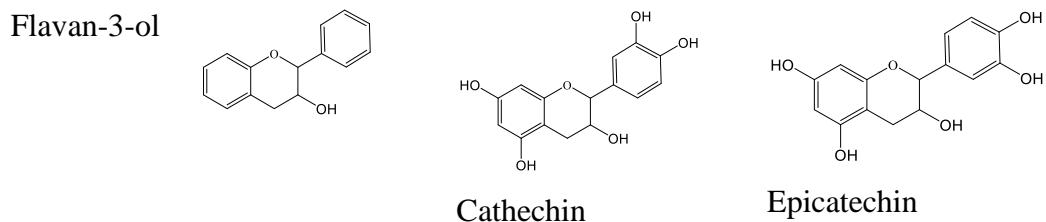


Gambar 2.1. Struktur dasar flavonoid(Kumar and Pandey, 2013)

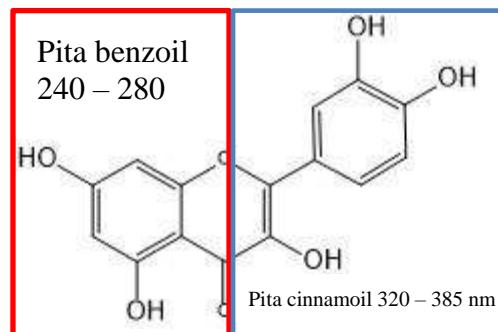
Flavonoid dapat dibagi lagi menjadi beberapa subkelompok yang berbeda tergantung pada posisi cincin aromatik pada bagian benzopyrane. Flavonoid di mana cincin B terhubung pada posisi 3 cincin C disebut isoflavon (3-benzopyrans). Flavonoid yang cincin B dihubungkan pada posisi 4 disebut neoflavonoid (4-benzopyranes), sedangkan yang cincin B dihubungkan pada posisi 2 (2-phenylbenzopyrans) selanjutnya dapat dibagi lagi menjadi beberapa subkelompok pada dasar dari fitur struktural cincin C (Panche et al., 2016). Kelompok flavonoid ini dapat dibagi menjadi berbagai kelas seperti flavon (misalnya, flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (misalnya, quercetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (misalnya, flavanon, hesperetin, dan naringenin), dan lainnya. Struktur umumnya dapat ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Struktur umum flavonoid (Kumar and Pandey, 2013)

Kelompok	Struktur backbone	Contoh
Flavonoid		
Flavone		 Luteolin
		Apigenin
Flavonol		 Quercetin
		Kaempferol
Flavanon		
		Hesperitin
Flavononol		
		Taxfolin
Isoflavon		
		Daldzein



Flavonoid merupakan senyawa berwarna yang memiliki pita serapan khusus di wilayah UV-VIS dan dapat dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri (Kasprzak et al., 2015). Spektra UV-vis flavonoid terdiri dari serapan yang timbul dari cincin benzena A dan B dan kemungkinan konjugasinya untuk cincin C. Semua flavonoid memiliki serapan maksimum sekitar 240–290 nm (Band II = pita benzoil), yang sebagian besar dipengaruhi oleh konjugasi cincin A dan pola substitusinya (Santos – Buelga et al., 2003). Beberapa flavonoid memiliki serapan maksimum sekitar 300-550 nm (Band I = pita cinnamoil), yaitu terdeteksi pada flavonoid di mana cincin B dan C terkonjugasi (melalui ikatan rangkap antara karbon C – 2 dan C – 3 dalam cincin C) seperti terlihat pada Gambar. 2. 2.



Gambar 2.2. Struktur quercetin memberikan 2 pita serapan (Kasprzak et al., 2015)

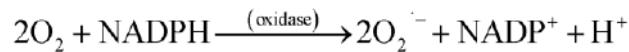
Pergeseran merah terjadi karena meningkatnya gugus hidroksil, misal dari 367 nm dalam kaempferol, menjadi 371 nm dalam quercetin dan 374 nm dalam myricetin. Oleh karena itu, Pita I flavone selalu mempunyai serapan dengan panjang gelombang yang lebih pendek 20 ± 30 nm daripada flavonol yang ekuivalen. Pergeseran hypsochromic dihasilkan oleh glycosilasi dan methylasi (Robards et al., 1999).

Penentuan senyawa flavonoid ini secara umum dilakukan dengan cara spektrofotometri yang dilakukan sejak tahun 1991(Lamaison, 1991) sampai dengan sekarang (Das et al., 2019). Sensitivitas deteksi dapat ditingkatkan dengan memilih deteksi pada panjang gelombang di mana fenolik menunjukkan penyerapan maksimum. Untuk akurasi terbaik, senyawa fenolik harus dikuantifikasi dengan standar yang memiliki struktur kimia yang sama atau serupa sebagai senyawa terukur. Penggunaan standar yang tidak sesuai menghasilkan kesalahan kuantisasi (Marston dan Hostettman, 2006) karena standar ini memiliki sifat penyerapan UV-vis yang berbeda dari senyawa yang diukur (Vihakas, 2014)

Penentuan total flavonoid juga dilakukan dengan metode kolorimetri dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Zeraik and Yariwake, 2010)(.,Wang et al., 2012; Fu et al., 2012; Marques et al., 2013; Wang et al. , 2012). Pada penelitian Zeraik dan Yariwake (2010), penentuan total flavonoid menggunakan standar rutin untuk mendapatkan analisis total flavonoid rutin pada pulp buah *Passiflora edulis*.

Beberapa studi melaporkan ada korelasi positif antara total senyawa fenolat (TPC=Total Phenolic Content), total senyawa falvonoid (TFC = Total Flavonoid Content) dengan aktivitas antioksidan pada berbagai tanaman obat (yang diekstraksi dengan air atau metanol). Kadar fenolat yang tinggi memberikan bioaktivitas antioksidasi dari ekstrak tanaman tersebut(Waras Nurcholis, 2012). Metabolit sekunder yang bersifat fenolik, termasuk flavonoid, bertanggung jawab atas berbagai aktivitas farmakologis (Kumar and Pandey, 2013). Flavonoid merupakan zat fenolik terhidroksilasi dan diketahui disintesis oleh tanaman sebagai respons terhadap infeksi mikroba. Gugus fungsi hidroksil pada flavonoid memberikan efek antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan / atau dengan chelating ion logam(Rice-Evans et al., 1996). Sehingga dapat dikatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik dan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi.

Reaksi oksidasi pada proses normal metabolisme sel untuk menghasilkan energi, dapat membentuk produk samping yaitu radikal bebas. Produk samping ini umumnya spesi oksigen reaktif (ROS) serta spesi nitrogen reaktif (RNS).



Gambar 2.3. Reaksi oksidasi (Nimse and Pal, 2015)

Selain $\text{O}_2^{\cdot-}$, senyawa yang bersifat radikal adalah ${}^1\text{O}_2$ (singlet oksigen), $\cdot\text{OH}$ (hidroksi radikal), RO^{\cdot} (alkoksi radikal), ROO^{\cdot} (peroksil radikal), H_2O_2 (hidrogen peroksida), Spesi-spesi ini memainkan peran ganda sebagai senyawa yang bersifat toksik dan juga sebagai senyawa yang bermanfaat. Pada level rendah atau sedang, ROS dan RNS memberikan efek baik pada fungsi kekebalan tubuh. Pada konsentrasi tinggi, ROS dan RNS menghasilkan stres oksidatif yang dapat merusak struktur sel. Stres oksidatif berperan besar dalam perkembangan penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, radang sendi, penuaan, gangguan autoimun, penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif. Tubuh manusia memiliki beberapa mekanisme untuk mengatasi stres oksidatif dengan memproduksi antioksidan, yang diproduksi secara alami atau diperoleh secara eksternal melalui makanan dan / atau suplemen. Antioksidan endogen dan eksogen bertindak sebagai "penangkap radikal bebas" dengan mencegah dan memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh ROS dan RNS, dan karenanya dapat meningkatkan pertahanan kekebalan tubuh dan menurunkan risiko kanker dan penyakit degeneratif (Valko et al., 2006).

Rice-Evans (1996) menyatakan bahwa ada 3 kriteria yang mempengaruhi keefektifan penangkapan radikal, yaitu:

1. struktur o-dihidroksi di cincin B, yang memberikan stabilitas yang lebih tinggi ke bentuk radikal dan berpartisipasi dalam delokalisasi elektron.
2. ikatan rangkap 2,3 dalam konjugasi dengan 4-okso fungsi dalam cincin C bertanggung jawab untuk elektron delokalisasi dari cincin B. Potensi antioksidan terkait dengan struktur dalam hal elektron delokalisasi inti aromatik. Ketika senyawa bereaksi dengan radikal bebas, fenoksil radikal yang diproduksi distabilkan oleh efek resonansi dari inti aromatik;
3. kelompok 3- dan 5-OH dengan fungsi 4-okso di Cincin A dan C diperlukan untuk memaksimalkan potensi penangkapan radikal.

Jadi, quercetin, misalnya, memenuhi semua faktor penentu yang disebutkan di atas dan merupakan antioksidan yang lebih efektif daripada flavanol (mis., Katekin), yang tidak memiliki aspek keunggulan struktural quercetin (Rice-Evans et al., 1996). Sementara itu, aktivitas antioksidan asam fenolat dan esternya tergantung pada jumlah gugus hidroksil dalam molekul dan akan diperkuat oleh rintangan sterik. (Shahidi & Naczk, 2004). Substitusi hidroksil tunggal pada posisi 5 tidak memberikan aktivitas, sedangkan substitusi di-OH pada 3 * dan 4 * sangat penting untuk aktivitas menyerap radikal peroksil dari flavonoid. Konjugasi antara cincin A dan B tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan tetapi sangat penting untuk tindakan prooksidan yang diprakarsai oleh tembaga dari flavonoid. Metilasi-O dari substitusi hidroksil menonaktifkan antioksidan dan aktivitas prooksidan flavonoid (Cao et al., 1997)

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1.Kerangka Konsep dan Hipotesis

Kemampuan cincin fenolat menyerap sinar UV dan fakta bahwa beberapa fenolat yang merupakan senyawa berwarna yang menunjukkan serapan di daerah visible membuat spektroskopi UV-Vis menjadi teknik yang cocok untuk menentukan kuantitas senyawa fenolat (Aleixandre and du Toit, 2018). Penggunaan spektrofotometer UV untuk menganalisis kadar senyawa fenolat menggunakan metode Folin-Ciocalteu dilakukan sejak tahun 1965 (Singleton, 1965) sampai dengan sekarang (Genc et al., 2019). Identifikasi dan kuantisasi senyawa fenolik juga dapat dilakukan dengan alat HPLC (High Performance Liquid Chromtography (Alasalvar et al., 2001).

Salah satu kelompok senyawa fenolat adalah flavonoid yang merupakan metabolit sekunder dengan struktur polifenolat (Panche et al., 2016). Penentuan senyawa ini secara umumnya dilakukan dengan cara spektrofotometri yang dilakukan sejak tahun 1991(Lamaison, 1991) sampai dengan sekarang (Das et al., 2019). Penentuan total flavonoid juga dilakukan dengan metode kolorimetri dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Wang et al., 2012; Zeraik dan Yariwak, 2012; Fu et al., 2012; Marques et al., 2013; Wang et al. , 2012).

Beberapa studi melaporkan ada korelasi positif antara total senyawa fenolat (TPC=Total Phenolic Content), total senyawa falvonoid (TFC = Total Flavonoid Content) dengan aktivitas antioksidan pada berbagai tanaman obat (yang diekstraksi dengan air atau metanol). Kadar fenolat yang tinggi memberikan bioaktivitas antioksidasi dari ekstrak tanaman tersebut(Waras Nurcholis, 2012). Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidasi menggunakan radikal bebas yang stabil DPPH (α,α -difenil- β -pikrililhidrazil; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, M = 394,33). Senyawa radikal ini memiliki pita serapan yang kuat pada bagian sinar tampak ($\lambda_{max} \approx 520$ nm, sedikit tergantung pada pelarut) (Foti et al., 2011). Metode penentuan aktivitas antioksidasi menggunakan DPPH ini dikembangkan oleh Blois (1958). Penelitian tentang metode DPPH secara bertahap meluas dan mengarah pada pengembangan pendekatan baru untuk mengukur aktivitas antioksidan. Salah

satu pendekatan baru untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah dengan dan metode HPLC(Yamaguchi et al., 1998) (Qiu et al., 2012). (Kandi and Charles, 2019). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metoda HPLC ini diduga dapat mengatasi kelemahan metode colorimetri DPPH yang jika diterapkan pada sampel (ekstrak tanaman atau makanan) yang berwarna akan terjadi interferensi oleh pigmen yang terdapat pada ekstrak sampel. Yamaguchi et al, (1998) mengembangkan metode DPPH – HPLC dan membandingkannya dengan aktivitas antioksidan standar dan minuman komersial. Penerapan metoda HPLC ini dapat juga digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman dan obat.

Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L) telah diteliti dan dinyatakan IC₅₀ antioksidan dalam ekstrak buah kersen dengan pelarut metanol menggunakan metode DPPH UV-Vis sebesar $90 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$ (Preethi et al., 2010). Sementara penelitian Buhian (2017) menunjukkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun dan batang menggunakan metode DPPH UV-Vis menunjukkan penghambatan DPPH dengan nilai yang relatif tinggi di atas 90% (Buhian et al., 2017). Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) pada sampel berumur 10 minggu mempunyai nilai IC₅₀ 17.35 $\mu\text{g/ml}$ (Median et al., 2015).

Penelitian mengenai pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L) menggunakan metode DPPH-HPLC belum pernah dilakukan. Oleh karena itu akan dilakukan penelitian mengenai analisis in vitro aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH-HPLC serta korelasinya dengan total fenolik dan total flavonoid pada ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L). Maka hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Membandingkan hasil analisis Total Phenolat menggunakan metode Spektrofotometri dengan metode HPLC pada ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L).

2. Membandingkan hasil analisis Total Flavonoid menggunakan metode Spektrofotometri dengan metode HPLC pada ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L).
3. Membandingkan hasil analisis Aktivitas Antioksidan menggunakan metode Spektrofotometri dengan metode HPLC pada ekstrak daun tanaman herbal meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L).

3.2.Bahan dan Alat

Sampel : sampel ekstrak alkohol daun meniran hijau (*Phyllanthus niruri*), Peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura* L).

Bahan Kimia dan standar : metanol untuk HPLC, DPPH, standar quercetin, standar asam galat, semua pelarut dengan kualitas pro analisis (pa),

Alat : Spektrofotometer, Instrumen: HPLC-LC-2030C 3D (Shimadzu-Prominence-I) atau setara lainnya. Kondisi kromatografi untuk analisis antioksidasi: Kolom: C18 (Kolom Phenomenex Luna-C18), Panjang: 250 mm, Diameter id: 4,6 mm, Suhu oven kolom: 25 ° C, Detektor: PDA, Panjang gelombang: 517 nm, Fase gerak (A: B): Air Murni: Metanol (20:80), Volume injeksi: 20 µl, Laju aliran: 1 ml / menit, Suhu cooler: 15 ° C, Waktu pembersihan: 10 Menit, Pengencer: Metanol (untuk HPLC atau yang setara), Waktu retensi: 7,23 Menit, Total waktu menjalankan: 12,0 Menit. Rincian Glassware: 100 ml dan 5 ml labu ukur, 10 µl, hingga 1000 µl Pipet mikro.

3.2 Analisis spektrofotometer UV-Vis

Analisis kuantitatif sampel dihitung pada panjang gelombang 515 nm dengan menggunakan UV-Visible Spectroquant Pharo 300 (Merck). Aktivitas peredaman radikal ditentukan dengan cara menghitung perbedaan nilai absorbansi dari blanko dan sampel.

$$\text{Peredaman radikal (\%)} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100$$

3.3 Analisis HPLC

Sampel difilter menggunakan membran Bulk GHP Acrodisc® 25mm Syringe Filter dan 20µL sampel diinjeksi untuk analisis HPLC. Blanko disiapkan dengan menambahkan 3,8 mL larutan DPPH (50µM) dalam 0,2 mL metanol yang disiapkan sesaat sebelum analisis. HPLC yang digunakan adalah Shimadzu LC-20 Prominence, dimana sistemnya terdiri dari auto-sampler (SIL-20A HT).

Data dianalisis dan diproses menggunakan software LabSolutions (Versi 5.54 SP5). Analisis menggunakan kolom Purospher® STAR RP-18e (250 mm × 4 mm, 5µM) (Merck, Darmstadt, Germany). Eluen yang digunakan adalah methanol/air (80:20 v/v) dengan laju alir 1mL/menit. Puncak DPPH di deteksi pada panjang gelombang 515 nm. Kemampuan mereduksi DPPH dilihat dengan cara membandingkan luas puncak (PA) antara blanko dengan sampel yang ditulis dalam % peredaman radikal sampel.

$$\text{Peredaman radikal (\%)} = \frac{\text{PA}_{\text{blanko}} - \text{PA}_{\text{sampel}}}{\text{PA}_{\text{blanko}}} \times 100$$

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol tanaman herbal, yaitu meniran (*Phyllanthus niruri*), peterseli (*Petroselinum crispum*) dan kersen (*Muntingia calabura L*) dilakukan variasi perlakuan dihilangkan klorofilnya (sampel A) dan tanpa dihilangkan klorofilnya (sampel B). Perlakuan ini diberikan karena pada saat preparasi sampel, keberadaan klorofil yang sangat banyak pada sampel berupa tanaman diduga memberikan pengaruh pada hasil analisis total fenolat, total flavonoid dan aktivitas penangkapan radikal DPPH.



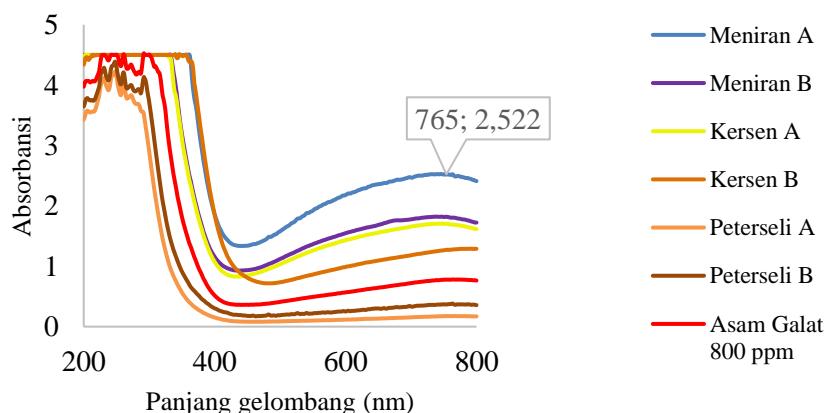
Gambar 4.1. Sampel kental dengan klorofil yang menggumpal banyak
Penghilangan klorofil dilakukan dengan cara penambahan air panas pada saat filtrat sudah dievaporasi tinggal setengah dari volume semula. Perbandingan air : filtrat = 1 : 1. Setelah suhu normal, ke dalam campuran tersebut ditambahkan etil eter. Bagian yang mengandung klorofil akan berada di bagian atas, sehingga filtrat yang bebas klorofil dapat dipisahkan menggunakan corong pisah.



Gambar 4. 2. Pemisahan filtrat dari klorofil menggunakan corong pisah

Evaporasi campuran yang sudah dihilangkan klorofilnya dilanjutkan sampai ekstrak mengental. Selanjutnya dibekukan dan dievaporasi sampai kering. Ekstrak sampel yang diperoleh kemudian dianalisis kandungan total fenoat, total flavonoid dan aktivitas penangkapan radikal DPPH. Metode analisis yang digunakan menggunakan 2 cara yaitu metode Spektrofotometri UV-Vis dan metode TLC Densitometri.

Pada analisis total fenolat menggunakan metode Spektrofotometri, ekstrak sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu. Absorbansi optimal senyawa ini ada pada panjang gelombang sekitar 760 nm. Intensitas warna yang dihasilkan ini disebabkan oleh banyaknya gugus OH yang dapat teroksidasi (Singleton, 1965). Absorbansi yang dihasilkan dari campuran senyawa fenolat, ekuivalen dengan kontribusinya secara individual. Total fenolat dinyatakan sebagai jumlah (mg) yang ekivalen dengan mg senyawa standard. Pada penelitian ini, senyawa standard yang digunakan untuk analisis total fenolat adalah asam galat. Spektrum senyawa yang dihasilkan dari ekstrak sampel/senyawa standard dengan reagen Folin Ciocalteu menunjukkan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 765 nm (Gambar 4.3).

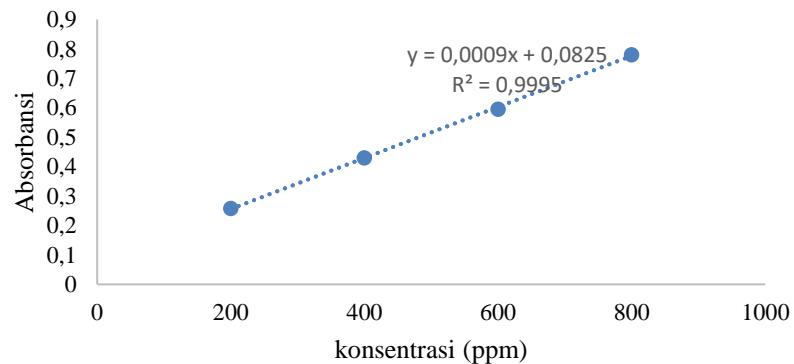


meniran A, kersen A dan peterseli A = ekstrak sampel yang dihilangkan klorofilnya, meniran B,

kersen B dan peterseli B = ekstrak sampel tanpa penghilangan klorofil

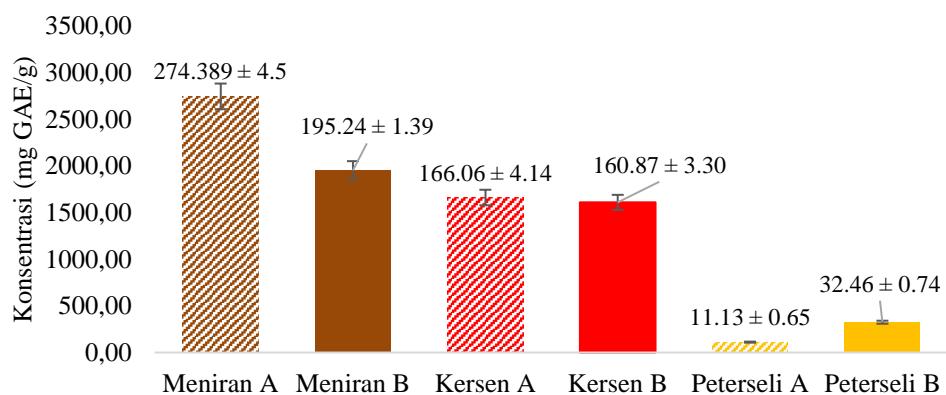
Gambar 4. 3. Spektrum analisis total fenolat

Adapun kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran asam galat berbagai konsentrasi memberikan persamaan $y = 0,0009 x + 0,0825$ dengan harga $R^2 = 0,9995$ (Gambar 4. 4)



Gambar 4.4. Kurva kalibrasi asam galat

Konsentrasi asam galat pada ekstrak sampel yang dinyatakan sebagai nilai X dihitung dari nilai absorbansi (Y) yang diplotkan pada kurva kalibrasi. Total fenolat dihitung dari harga X dibagi konsentrasi larutan ekstrak sampel. Maka diperoleh harga TPC dari keenam sampel ekstrak tanaman yang dapat dinyatakan dalam grafik batang pada Gambar 4.5.

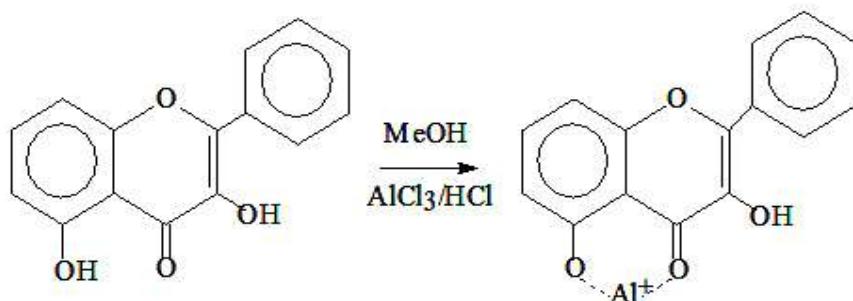


Gambar 4.5. Total Fenolat (mg GAE/g ekstrak sampel)

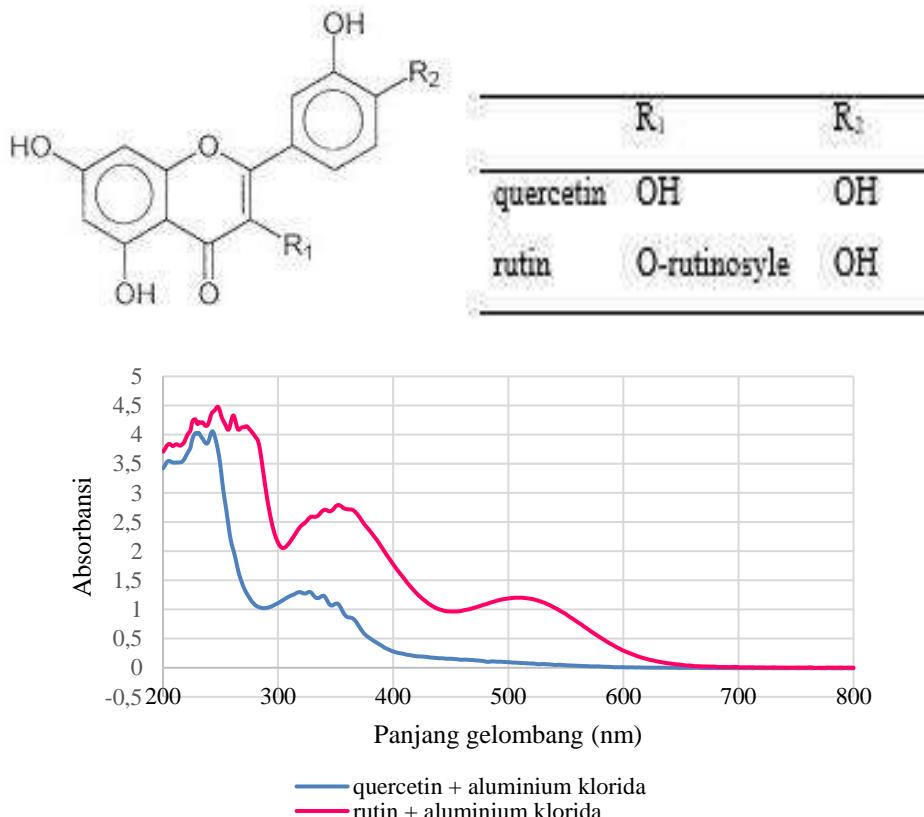
Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.5, total fenolat pada meniran A dan kersen A, lebih tinggi daripada (meniran B dan kersen B). Sementara total fenolat

peterseli A justru lebih kecil dari peterseli B. Uji t untuk sampel meniran dan peterseli pada kedua perlakuan menunjukkan nilai lebih kecil dari 0,05 yaitu secara berturut-turut 0,00069 dan 0,0007. Ini berarti nilai TPC untuk perlakuan dihilangkan klorofil dan tidak dihilangkan menunjukkan hasil yang berbeda. Sedangkan pada sampel kersen menunjukkan nilai yang lebih besar dari 0,05 yaitu 0,149. Ada kemungkinan ragam jenis klorofil pada tanaman, dapat memberikan pengaruh terhadap analisis total fenolat.

Pada analisis TFC (*Total Flavonoid Content*), teknik identifikasi flavonoid sering menggunakan pola oksigenasi pada flavonoid. Reagen yang biasa digunakan untuk menggeser spektrum UV adalah AlCl_3 , NaOH , Natrium Asetat. Pada penelitian ini penentuan total flavonoid pada ekstrak sampel menggunakan reagen $\text{AlCl}_3 + \text{NaNO}_2 + \text{NaOH}$. Reaksi kompleksasi terjadi dalam suasana basa (dengan penambahan Na_2NO_2 dan NaOH). Reaksi ini didasarkan pada nitrasi cincin aromatik dari kelompok katekol (Barnum, 1977). Setelah penambahan AlCl_3 akan terbentuk larutan kompleks berwarna kuning, yang kemudian akan menjadi merah dengan penambahan NaOH . Absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 nm. Prosedur ini selektif untuk senyawa rutin, luteolin dan katekin (Pekal, 2014). Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan senyawa standard rutin. Pergeseran batokromik pada pita I mengidentifikasi adanya substitusi gugus OH pada C-5 dalam kelompok flavonol oleh reaksi dengan AlCl_3 seperti terlihat pada Gambar 4.6.

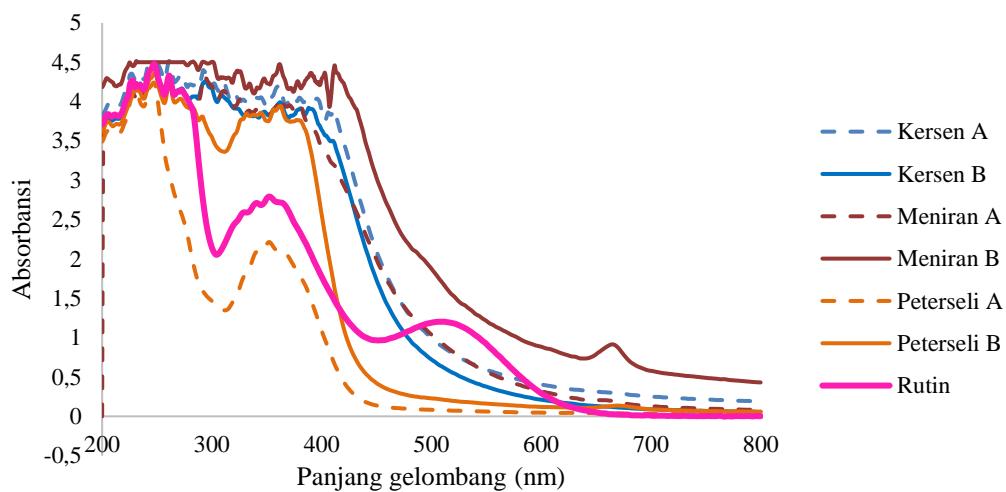


Gambar 4.6. Reaksi 5-hidroksi-flavonol dengan AlCl_3



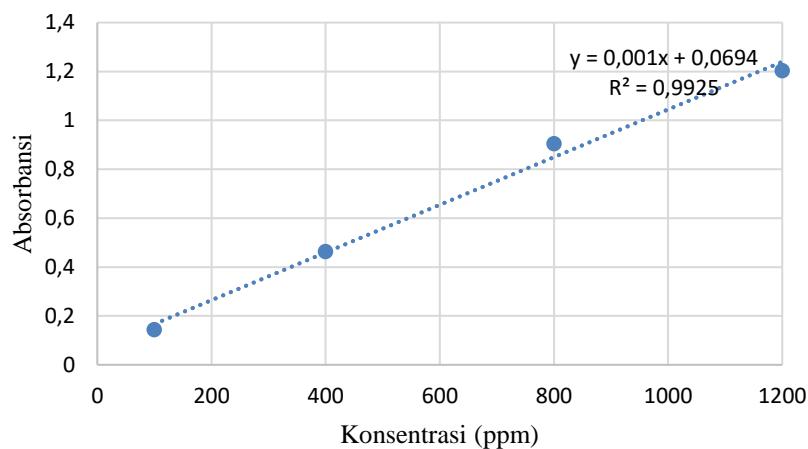
Gambar 4.7. Spektrum hasil reaksi rutin + AlCl₃ + NaOH dan quercetin + AlCl₃ + NaOH

Pada kondisi/perlakuan yang sama, terlihat ekstrak sampel tidak menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 500 – 550 nm, sementara senyawa standard rutin menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 510 nm. Spektrum semua ekstrak sampel dan senyawa standar yang sudah direaksikan dengan AlCl₃ ditunjukkan pada Gambar 4.8.



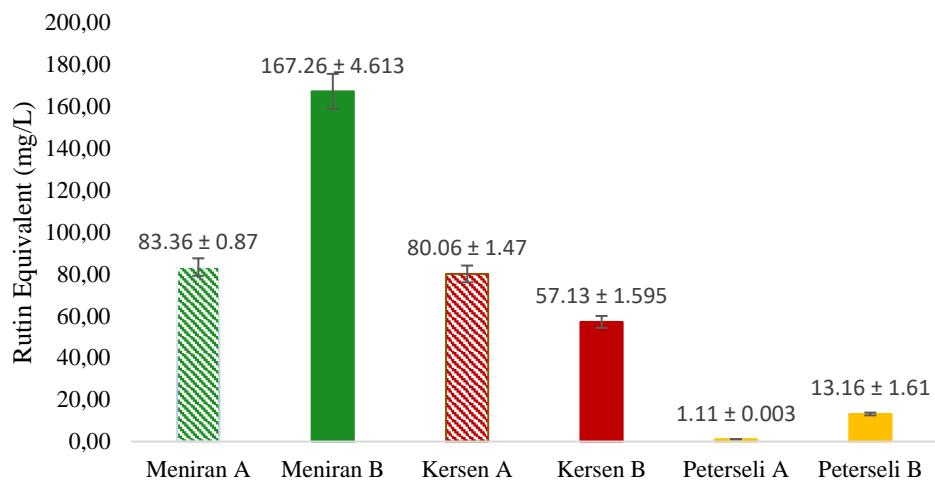
Gambar 4.8. Spektrum sampel ekstrak/senyawa standard + AlCl_3 + NaOH

Kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran rutin berbagai konsentrasi memberikan persamaan $y = 0,001x + 0,0694$ dengan harga $R^2 = 0,9925$ (Gambar 4.9)



Gambar 4.9. Kurva kalibrasi standard rutin

Hasil analisis total flavonoid (TFC) sampel meniran A, meniran B, kersen A, kersen B serta peterseli A dan peterseli B secara berturut-turut adalah $83,36 \pm 0,87$; $167,26 \pm 4,613$; $80,06 \pm 1,47$; $57,13 \pm 1,595$; $1,11 \pm 0,003$ dan $13,36 \pm 1,61$ mg RE/g ekstrak sampel (gambar 4.10)

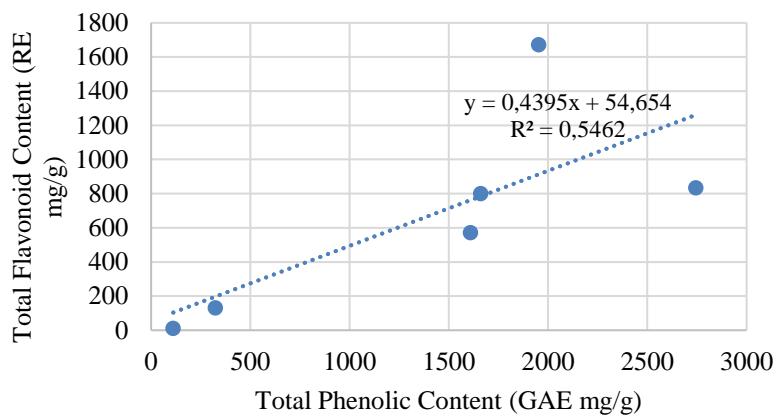


Gambar 4. 10. Total flavonoid ekstrak sampel

Uji t untuk sampel meniran, kersen dan peterseli pada kedua perlakuan menunjukkan nilai lebih kecil dari 0,05 yaitu secara berturut-turut 0,0005; 0,0026 dan 0,0032. Ini berarti nilai TFC untuk perlakuan dihilangkan klorofil dan tidak dihilangkan menunjukkan hasil yang berbeda.

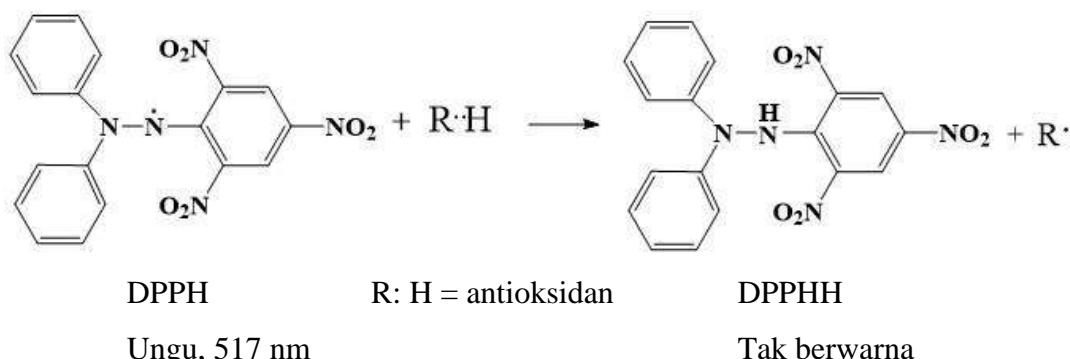
Pada meniran dan peterseli, total flavonoid dari ekstrak yang dihilangkan klorofilnya menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak yang tidak dihilangkan klorofilnya. Sebaliknya pada kersen, nilai total flavonoid lebih tinggi pada ekstrak yang dihilangkan klorofilnya. Sampel meniran dan peterseli menunjukkan bahwa total fenolat yang tinggi tidak selalu menunjukkan total flavonoid yang juga tinggi.

Grafik korelasi antara total fenolat dan total flavonoid (Gambar 4. 11) menunjukkan nilai R^2 sebesar 0,5462 yang berarti 54 % total flavonoid dipengaruhi oleh total kandungan fenolat, sedangkan 46 % dari faktor yang lain. Sementara nilai korelasi Pearson adalah 0,74 artinya antara total flavonoid dan total fenolat ada korelasi positif.



Gambar 4. 11. Korelasi antara TFC dan TPC

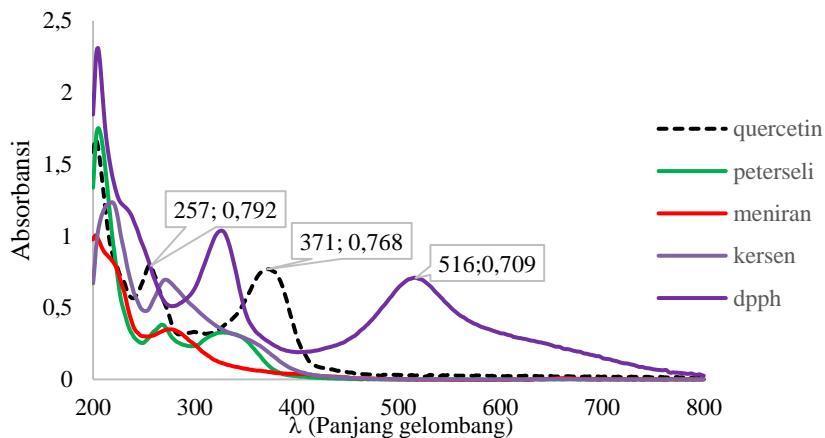
Keberadaan senyawa fenolat dan flavonoid yang merupakan metabolit sekunder menunjukkan adanya aktivitas antioksidasi (Chavan et al., 2013). Pada penelitian ini, aktivitas antioksidasi diukur dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Senyawa murni yang digunakan sebagai standard adalah quercetin. Reaksi antara senyawa aktif dengan DPPH menyebabkan warna ungu DPPH menjadi kuning.



Gambar 4.12. Mekanisme reaksi DPPH dengan Antioksidan (Liang and Kitts, 2014)

DPPH yang berwarna ungu menunjukkan serapan maksimal pada panjang gelombang 516 nm. Sementara senyawa DPPH yang terbentuk memberikan warna kuning/tak berwarna.

Spektrum semua ekstrak sampel, senyawa quercetin dan senyawa DPPH yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4. 13. Spektrum ekstrak sampel, senyawa standar quercetin dan DPPH

Pada panjang gelombang 516 nm, DPPH memiliki serapan yang paling tinggi. Sementara ekstrak semua sampel dan senyawa standard (quercetin) tidak menunjukkan serapan maksimal pada panjang gelombang 516 nm tersebut. Quercetin dan ekstrak peterseli menunjukkan serapan yang khas ditunjukkan oleh senyawa flavonoid yaitu di panjang gelombang 250 – 290 nm (pita benzoil) dan di panjang gelombang 300 – 400 nm (pita sinamoil). Hasil analisis aktivitas penangkapan radikal DPPH dinyatakan sebagai nilai IC_{50} (= Inhibition Concentration). Nilai IC_{50} quercetin menggunakan metode Spektrofotometri adalah $11,62 + 0,175$ ppm. Nilai ini relatif dekat dengan nilai IC_{50} quercetin pada laporan penelitian yang telah ada yaitu $9,0 \pm 0,1$ (Abourashed, 2005). Pada 3 jenis ekstrak etanol dengan perlakuan penghilangan klorofil dan tanpa penghilangan klorofil, diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 4.1. IC_{50} ekstrak sampel

Jenis ekstrak sampel	IC_{50}
Meniran A	$25,26 \pm 0,036$
Meniran B	$63,93 \pm 0,0028$
Kersen A	$72,73 \pm 0,049$
Kersen B	$117,6 \pm 0,0361$
Peterseli A	$4913,74 \pm 1,588$
Peterseli B	$3247,36 \pm 1,642$
Quercetin	$11,62 + 0,175$

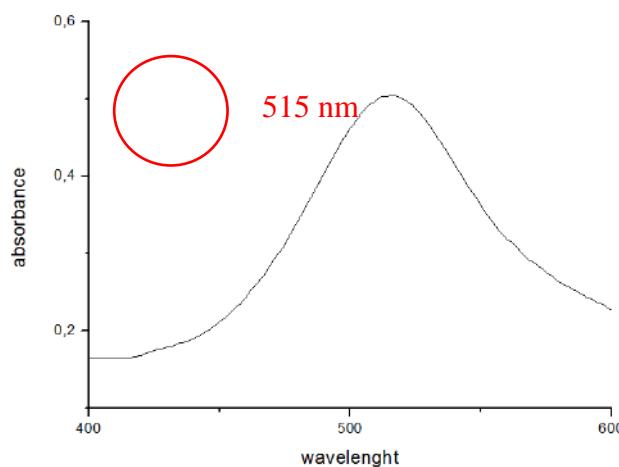
Uji t untuk nilai IC₅₀ pada sampel meniran, kersen dan peterseli pada kedua perlakuan menunjukkan nilai lebih kecil dari 0,05. Ini berarti nilai IC₅₀ untuk perlakuan dihilangkan klorofil dan tidak dihilangkan menunjukkan hasil yang berbeda. Aktivitas penangkapan radikal DPPH pada ekstrak meniran dan kersen yang dihilangkan klorofilnya lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak yang tidak dihilangkan klorofilnya. Dengan pembanding senyawa standard quercetin yang nilai IC₅₀ nya = 11,62 + 0,175, maka meniran yang menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 25,26 dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang cukup kuat. Sedangkan pada peterseli baik yang dihilangkan maupun yang masih mengandung klorofil, berada pada angka IC₅₀ jauh di atas 100 ppm yang berarti aktivitas penangkapan radikal DPPH sangat lemah. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak sampel yang sangat sedikit kandungan senyawa aktifnya (fenolat dan flavonoid), klorofil dapat memberikan peran sebagai senyawa penangkap radikal DPPH, meskipun aktivitasnya tidak terlalu tinggi. Pigmen alami seperti klorofil dan turunannya memang menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH, namun tidak terlalu tinggi, dibandingkan dengan senyawa antioksidan lain seperti trolox atau BHT (Lanfer-Marquez et al., 2005). Struktur dasar klorofil adalah sebuah cincin porphyrin dengan magnesium sebagai atom sentral. Salah satu mekanisme yang menentukan aktivitas antioksidasi klorofil adalah menyediakan donor hidrogen untuk mereduksi radikal bebas seperti DPPH. (Endo, 1985).

Uji penapisan fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak metanol rimpang lengkuas merah dan lengkuas putih. Hasil uji penapisan fitokimia sernuk dan ekstrak metanol rimpang lengkuas merah (Tabel 3.1) menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak lengkuas merah mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan kuinon. Hal ini sesuai dengan penelitian yang pernah dilaporkan oleh Raj *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa rimpang lengkuas merah mengandung alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

Hasil uji penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak metanol rimpang lengkuas putih (Tabel 3.2) menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak metanol rimpang lengkuas putih mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan kuinon. Hal ini sesuai dengan penelitian yang pernah dilaporkan oleh Srividya *et al.* (2012) dan Subash *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa rimpang lengkuas putih mengandung alkaloid, steroid/triterpenoid, tanin dan flavonoid.

4.3 Analisis Aktivitas Peredaman Radikal terhadap lengkuas

Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu (Koleva, 2002). Panjang gelombang maksimum radikal DPPH adalah 515 nm (Gambar 3.1). Hal ini diperkuat dengan penelitian Molyneux (2004), dimana radikal DPH memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 515 nm.



Gambar 3.1 Spektra radikal DPPH pada analisis spektrofotometri

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persentase penghambatan atau persentase inhibisi. Parameter yang digunakan untuk

menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan presentase penghambatan sebesar 50%. Zat yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi memiliki nilai EC_{50} atau IC_{50} rendah (Kuntorini *et al*, 2011). Harga IC_{50} senyawa kuersetin dan ekstrak lengkuas ditampilkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.1: Hasil Uji penapisan fitokimia rimpang lengkuas merah

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Serbuk rimpang	Ekstrak metanol rimpang
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	-	-
4	Tanin	+	+
5	Kuinon	+	+
6	Steroid/triterpenoid	+	+

Tabel 3.2 : Hasil uji penapisan fitokimia rimpang lengkuas putih

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Serbuk rimpang	Ekstrak metanol rimpang
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	-	-
4	Tanin	+	+
5	Kuinon	+	+
6	Steroid/ Triterpenoid	+	+

Tabel 3.3 : Aktivitas peredaman radikal kuersetin dan ekstrak lengkuas

Sampel	Nilai IC_{50} (ppm)	
	Metode Spektrofotometri	Metode HPLC
Kuersetin	17,05	15,74
Ekstrak lengkuas merah	488,43±1,13	68,12±10,19
Ekstrak lengkuas putih	462,47±2,98	62,17±3,87

Secara keseluruhan aktivitas peredaman radikal ekstrak metanol lengkuas merah dan lengkuas putih masih berada di bawah aktivitas peredaman radikal senyawa kuersetin (kontrol positif). Hal ini dikarenakan ekstrak lengkuas merah dan lengkuas putih bukan merupakan senyawa murni, sehingga terdapat kemungkinan mengandung senyawa-senyawa lain yang tidak memiliki aktivitas peredaman radikal.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Penelitian ini telah mengindikasikan bahwa kuantifikasi total flavonoid content (TFC) menggunakan TLC Densitometri dipengaruhi oleh penentuan eluen tepat diperoleh pemisahan yang baik dan memberikan hasil TFC yang lebih akurat. Analisis antioksidan metode TLC Densitometri menunjukkan kecenderungan yang sama dengan data yang diperoleh menggunakan metode UV-Vis spektrofotometri. Nilai IC₅₀ menggunakan metode UV-Vis spektrofotometri lebih tinggi daripada nilai IC₅₀ yang diperoleh menggunakan metode TLC Densitometri. Sementara itu, analisis total fenolat menggunakan metode TLC Densitometri tidak direkomendasikan.

Hasil analisis peredaman radikal senyawa standar kuersetin menggunakan metode spektrofotometri dan metode HPLC memberikan harga IC₅₀ yang tidak berbeda signifikan, tetapi untuk sampel ekstrak lengkuas memiliki harga IC₅₀ yang berbeda signifikan.

5.2. Saran

Formulasi terhadap tanaman-tanaman yang digunakan dalam penelitian ini perlu dipikirkan lebih mendalam sehubungan dengan telah diperoleh data-fata aktivitas antioksidan

DAFTAR PUSTAKA

- Agyare, C., Appiah, T., Boakye, Y. D. & Apenteng, J. A. 2017. Chapter 25 - Petroselinum Crispum: A Review. In: Kuete, V. (Ed.) Medicinal Spices And Vegetables From Africa. Academic Press.
- Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C. & Shahidi, F. 2001. Comparison Of Volatiles, Phenolics, Sugars, Antioxidant Vitamins, And Sensory Quality Of Different Colored Carrot Varieties. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49, 1410-1416.
- Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C. & Shahidi, F. 2001. Comparison Of Volatiles, Phenolics, Sugars, Antioxidant Vitamins, And Sensory Quality Of Different Colored Carrot Varieties. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49, 1410-1416.
- Aleixandre, J. & Du Toit, W. 2018. The Role Of Uv-Visible Spectroscopy For Phenolic Compounds Quantification In Winemaking.
- Aleixandre, J. & Du Toit, W. 2018. The Role Of Uv-Visible Spectroscopy For Phenolic Compounds Quantification In Winemaking.
- Aruna Sindhe M, Y. D. B. & A, A. C. 2013. Antioxidant And In Vivo Anti-Hyperglycemic Activity Of *Muntingia Calabura* Leaves Extracts
- Bagalkotkar, G., Sagineedu, S. R., Saad, M. S. & Stanslas, J. 2006. Phytochemicals From *Phyllanthus Niruri* Linn. And Their Pharmacological Properties: A Review. *Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, 58, 1559-1570.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations By The Use Of A Stable Free Radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.Doi:10.1038/1811199a0
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, And Nutritional Significance. *Nutr Rev*, 56, 317-33.
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms Of Action, And Potential Applications. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 10(4), 221–247.Doi:10.1111/J.1541-4337.2011.00156.X
- Buhian, W. P. C., Rubio, R. O. & Martin-Puzon, J. J. 2017. Chromatographic Fingerprinting And Free-Radical Scavenging Activity Of Ethanol Extracts Of *Muntingia Calabura* L. Leaves And Stems. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 7, 139-143.

- Buhian, W. P. C., Rubio, R. O., Valle, D. L., & Martin-Puzon, J. J. (2016). Bioactive Metabolite Profiles And Antimicrobial Activity Of Ethanolic Extracts From *Muntingia Calabura L.* Leaves And Stems. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 6(8), 682–685. doi:10.1016/J.Apjtb.2016.06.006
- Cao, G., Sofic, E. & Prior, R. L. 1997. Antioxidant And Prooxidant Behavior Of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology And Medicine*, 22, 749-760.
- Chandrasekar D., M.K., Ramakhrisna S., Diwan P.V., 2006, Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, 460-464
- Das, S., Ray, A., Nasim, N., Nayak, S. & Mohanty, S. 2019. Effect Of Different Extraction Techniques On Total Phenolic And Flavonoid Contents, And Antioxidant Activity Of Betelvine And Quantification Of Its Phenolic Constituents By Validated Hptlc Method. *3 Biotech*, 9, 37.
- Das, S., Ray, A., Nasim, N., Nayak, S. & Mohanty, S. 2019. Effect Of Different Extraction Techniques On Total Phenolic And Flavonoid Contents, And Antioxidant Activity Of Betelvine And Quantification Of Its Phenolic Constituents By Validated Hptlc Method. *3 Biotech*, 9, 37.
- Foti, M. C., Daquino, C., Dilabio, G. A. & Ingold, K. U. 2011. Kinetics Of The Oxidation Of Quercetin By 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (Dpph[•]). *Organic Letters*, 13, 4826-4829.
- Foti, M. C., Daquino, C., Dilabio, G. A. & Ingold, K. U. 2011. Kinetics Of The Oxidation Of Quercetin By 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (Dpph[•]). *Organic Letters*, 13, 4826-4829.
- Genc, N., Yıldız, I., Karan, T., Eminagaoglu, O. & Erenler, R. 2019. Antioxidant Activity And Total Phenolic Contents Of *Galanthus Woronowii* (Amaryllidaceae).
- Gilgun-Sherki, Y., Et Al. (2001). "Oxidative Stress Induced-Neurodegenerative Diseases: The Need For Antioxidants That Penetrate The Blood Brain Barrier." *Neuropharmacology* 40(8): 959-975.
- Gurav, S., Deshnkar, N., Gulkari, V., Duragkar, N., dan Patil, A., 2007, Free Radical Scavenging Activity of *Polygala chinensis* Linn. *Pharmacologyonline*, 2, 245-253

- Hanneken, A., Lin, F.-F., Johnson, J. & Maher, P. 2006. Flavonoids Protect Human Retinal Pigment Epithelial Cells From Oxidative-Stress-Induced Death. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47, 3164-3177.
- Harish, R. & Shivanandappa, T. 2006. Antioxidant Activity And Hepatoprotective Potential Of *Phyllanthus Niruri*. *Food Chemistry*, 95, 180-185.
- Huang, D., Ou, B. & Prior, R. L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem*, 53, 1841-56.
- Iizuka, T., Moriyama, H. & Nagai, M. 2006. Vasorelaxant Effects Of Methyl Brevifolincarboxylate From The Leaves Of *<I>Phyllanthus Niruri</I>*. *Biological And Pharmaceutical Bulletin*, 29, 177-179.
- Kandi, S. & Charles, A. L. 2019. Statistical Comparative Study Between The Conventional Dpph Spectrophotometric And Dropping Dpph Analytical Method Without Spectrophotometer: Evaluation For The Advancement Of Antioxidant Activity Analysis. *Food Chemistry*, 287, 338-345.
- Kasprzak, M. M., Erxleben, A. & Ochocki, J. 2015. Properties And Applications Of Flavonoid Metal Complexes. *Rsc Advances*, 5, 45853-45877.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis And Development Of Dpph Method Of Antioxidant Assay. *Journal Of Food Science And Technology*, 48(4), 412–422. Doi:10.1007/S13197-011-0251-1
- Khan, K.H., 2009, Roles of *Emblica officinalis* in Medicine-A Review, *Botany Research International*, 2, 218-228
- Koleva, I. I., Niederländer, H. A. G. & Van Beek, T. A. 2000. An On-Line Hplc Method For Detection Of Radical Scavenging Compounds In Complex Mixtures. *Analytical Chemistry*, 72, 2323-2328.
- Koleva, I.I., Beek, V.T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., dan Evstatieva, L.N, 2002, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity : A Comparative Study on Tree Testing Methods, *Phytochemical Analysis*, 13, 8-17
- Kumar, S. & Pandey, A. K. 2013. Chemistry And Biological Activities Of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- Kuntorini, E.M, Maria, D.A, dan Norma, M., 2011, Struktur Anatomi dan Kerapatan Sel Sekresi serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dari Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthoriza Roxb*) Asal Kecamatan Pengaron Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan, *J. Bioscientiae*, 8, 28-37
- Lamaison 1991. Main Flavonoid Contents Of Flowers And Leaves Of *Crataegus Monogyna Jacq.* And *Crataegus Laevigata (Poiret) Dc.* In Relation To Stage Of Plant Development. *Plantes Medicinales Et Phytotherapie*, 25, 12-16.

- Lamaison 1991. Main Flavonoid Contents Of Flowers And Leaves Of Crataegus Monogyna Jacq. And Crataegus Laevigata (Poiret) Dc. In Relation To Stage Of Plant Development. *Plantes Medicinales Et Phytotherapie*, 25, 12-16.
- Liang, N. & Kitts, D. D. 2014. Antioxidant Property Of Coffee Components: Assessment Of Methods That Define Mechanisms Of Action. *Molecules*, 19, 19180-19208.
- Liu, X., Mouming, Z., Jinshui, W., Bao, Y., Yeuming, J., 2008, Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Emblica Fruit (*Phyllanthus Emblica L.*) from Six Regions in China, *J.Food Composition and Analysis*, 21, 219-228
- Mediani, A., Abas, F., Khatib, A., Tan, C. P., Ismail, I. S., Shaari, K., ... Lajis, N. H. (2015). Phytochemical And Biological Features Of *Phyllanthus Niruri* And *Phyllanthus Urinaria* Harvested At Different Growth Stages Revealed By 1 H Nmr-Based Metabolomics. *Industrial Crops And Products*, 77, 602–613.Doi:10.1016/J.Indcrop.2015.09.036
- Mediani, A., Abas, F., Khatib, A., Tan, C. P., Ismail, I. S., Shaari, K., Ismail, A. & Lajis, N. H. 2015. Phytochemical And Biological Features Of *Phyllanthus Niruri* And *Phyllanthus Urinaria* Harvested At Different Growth Stages Revealed By 1h Nmr-Based Metabolomics. *Industrial Crops And Products*, 77, 602-613.
- Mediani, A., Abas, F., Khatib, A., Tan, C. P., Ismail, I. S., Shaari, K., Ismail, A. & Lajis, N. H. 2015. Phytochemical And Biological Features Of *Phyllanthus Niruri* And *Phyllanthus Urinaria* Harvested At Different Growth Stages Revealed By 1h Nmr-Based Metabolomics. *Industrial Crops And Products*, 77, 602-613.
- Nimse, S. B. & Pal, D. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, And Their Reaction Mechanisms. *Rsc Advances*, 5, 27986-28006.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: An Overview. *Journal Of Nutritional Science*, 5, E47-E47.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: An Overview. *Journal Of Nutritional Science*, 5, E47-E47.
- Pápay, Z., Kósa, A., Boldizsár, I., Ruszkai, Á., Balogh, E., Klebovich, I. & Antal, I. 2012. Pharmaceutical And Formulation Aspects Of *Petroselinum Crispum* Extract.
- Prakash A. Antioxidant Activity. *Med Lab Anal Prog*. 2001;19(2):1–6.
- Prakash, A. F. R., And Eugene Miller 2001. Antioxidant Activity.

- Pramono, S., 1998, *Pemisahan Flavonoid*, Kursus Singkat Pemisahan Kimia, PAU Bioteknologi UGM, Yogyakarta, 7-9
- Preethi, K., Vijayalakshmi, N., Shamna, R. & Sasikumar, J. M. 2010. In Vitro Antioxidant Activity Of Extracts From Fruits Of *Muntingia Calabura Linn.* From India. *Pharmacognosy Journal*, 2, 11-18.
- Preethi, K., Vijayalakshmi, N., Shamna, R. & Sasikumar, J. M. 2010. In Vitro Antioxidant Activity Of Extracts From Fruits Of *Muntingia Calabura Linn.* From India. *Pharmacognosy Journal*, 2, 11-18.
- Preethi, K., Vijayalakshmi, N., Shamna, R., & Sasikumar, J. M. (2010). In Vitro Antioxidant Activity Of Extracts From Fruits Of *Muntingia Calabura Linn.* From India. *Pharmacognosy Journal*, 2(14), 11–18. Doi:10.1016/S0975-3575(10)80065-3
- Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized Methods For The Determination Of Antioxidant Capacity And Phenolics In Foods And Dietary Supplements. *J Agri Food Chem.* 2005;53:4290–4302. Doi: 10.1021/Jf0502698.
- Prior, R., Wu, X. & Schaich, K. 2005. Standardized Methods For The Determination Of Antioxidant Capacity And Phenolics In Foods And Dietary Supplements.
- Raj, C.A., Sophia P.R.D., Rathi M.A., Gopalakrishnan V.K., 2012, Evaluation of *in vitro* antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 0263-0268
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. & Paganga, G. 1996. Structure-Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. *Free Radical Biology And Medicine*, 20, 933-956.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P. & Glover, W. 1999. Phenolic Compounds And Their Role In Oxidative Processes In Fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Singleton, V. L. 1965. Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* , 16, 144-58.
- Singleton, V. L. 1965. Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* , 16, 144-58.
- Srividya, A.R., Dhanabal, S.P, Satish kumar M.N, Parth kumar H.Bavadia, 2010, Antioxidant and Antidiabetic Activity of *Alpinia Galanga*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 3, 6-12
- Tang, E. L.-H., Rajarajeswaran, J., Fung, S., & Kanthimathi, M. (2015). *Petroselinum Crispum* Has Antioxidant Properties, Protects Against Dna Damage And Inhibits Proliferation And Migration Of Cancer Cells.

Journal Of The Science Of Food And Agriculture, 95(13), 2763–2771.
Doi:10.1002/Jsfa.7078

Trifunschi, S. & , D. A. 2012. Quantification Of Phenolics And Flavonoids From Petroselinum Crispum Extracts.

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M. 2006. Valko M, Rhodes Cj, Moncol J, Izakovic M, Mazur Mfree Radicals, Metals And Antioxidants In Oxidative Stress-Induced Cancer. Chem Biol Interact 160: 1-40.

Waras Nurcholis, B. P. P., Edy Djauhari Purwakusumah, Takeshi Katayama, Toshisada Suzuk 2012. Antioxidant, Cytotoxic Activities And Total Phenolic Content Of Four Indonesian Medicinal Plants

Waras Nurcholis, B. P. P., Edy Djauhari Purwakusumah, Takeshi Katayama, Toshisada Suzuk 2012. Antioxidant, Cytotoxic Activities And Total Phenolic Content Of Four Indonesian Medicinal Plants

Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. & Terao, J. 1998. Hplc Method For Evaluation Of The Free Radical-Scavenging Activity Of Foods By Using 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl. Biosci Biotechnol Biochem, 62, 1201-4.

Zeraik, M. L. & Yariwake, J. H. 2010. Quantification Of Isoorientin And Total Flavonoids In Passiflora Edulis Fruit Pulp By Hplc-Uv/Dad.

Zhang, H., Chen, F., Wang, X. & Yao, H.-Y. 2006. Evaluation Of Antioxidant Activity Of Parsley (Petroselinum Crispum) Essential Oil And Identification Of Its Antioxidant Constituents. Food Research International, 39, 833-839.

Zhong, Y. & Shahidi, F. 2015. 12 - Methods For The Assessment Of Antioxidant Activity In Foods11this Chapter Is Reproduced To A Large Extent From An Article In Press By The Authors In The Journal Of Functional Foods. In: Shahidi, F. (Ed.) Handbook Of Antioxidants For Food Preservation. Woodhead Publishing.

LAMPIRAN 1
Artikel Ilmiah 1 (telah terbit)
JKPK (terakreditasi)



THE COMPARISON OF SPECTROPHOTOMETRIC AND TLC-DENSITOMETRIC FOR DPPH RADICAL SCAVENGING ACTIVITY ANALYSIS OF THREE MEDICINAL PLANT EXTRACTS

Christina Setyadiwi M., M. Suzery, Agustina L. N. Aminin, and Bambang Cahyono*

Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto S.H., Semarang, Central Java, Indonesia

* Correspondence: phone/fax : 024-7460033, email: cahyono@live.undip.ac.id

Received: February 27, 2020
DOI : 10.30901/jpk.v02.i02.079

Accepted: June 19, 2020

Online Published: Aug 26, 2020

ABSTRACT

In this research, Thin Layer Chromatography-Densitometry has proven to be a good method for analyzing 1, 1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, since this approach displayed the similar trends with UV-Vis spectrophotometric method. Three medicinal plants collected from Semarang used to evaluate both methods. The IC₅₀ value ranged from 25.26 - 4913.74 ppm shown by UV-Vis spectrophotometric and 24.74 - 4674.61 ppm using TLC-Densitometric. Meriran Dechlorophyllated (*Phyllanthus niruri*) provides the strongest antioxidant activity and the weakest de-chlorophyllated parsley (*Petroselinum crispum*). The paired sample t-test points from a non-dechlorophyllated extract using the TLC densitometry test significantly gives a lower IC₅₀ value than the UV spectrophotometry method has. The maximum increase of peak area under the UV light 365 nm up to 56.08 %. This evidence supports the presumption that the scavenging radical DPPH caused not only decreasing the maximum absorbance under UV light 516 nm but also increasing the absorbance under UV light ± 365 nm.

Keywords: spectrophotometric; TLC-Densitometric; scavenging DPPH

INTRODUCTION

Meriran (*Phyllanthus niruri*), parsley (*Petroselinum crispum*), and kersen (*Muntingia calabura*) were three plants that potentially can be developed as medicine resources related to antimicrobial agent [1,2,3], anti-carcinogenic [4, 5], and-diabetic [6,7,8]. Parsley is a popular vegetable and spice in Europe. It is widely spread and easy to grow [9]. Apigenin, as the flavonoid of this plant, has been shown to act as a free radical. In relevant studies, 50 mg/kg of apigenin was given i.p. for female Sprague Dawley rats for 21 days [10,11]. Anthracene-induced mammary

tumors in Sprague Dawley mice, this treatment can prevent the accelerated development of 7,12-dimethylbenz (a) medroxyprogesterone acetate, while 20 mg/kg of apigenin is given i.p. for C57BL/6 mice showed an anti-tumor effect in malignant mesothelioma caused by transplantation of mice with MM # 40a cells that form ascites [12]. Another report showed decreased carcinogenesis of the large intestine in rats treated with azoxymethane in the diet of male Sprague-Dawley rats where 0.1% apigenin and 0.02% naringenin had been added for ten weeks (Figure 1) [13, 14].

LAMPIRAN 2.

Artikel Ilmiah 2 (Jurnal Alchemy: Journal of Chemistry, Terakreditasi, Submit)

SUSUNAN TIM ORGANISASI DAN PEMBAGIAN TUGAS

No	Nama	NIDN	Bidang keahlian	Alokasi waktu (jam/mg)	Tugas dalam Tim
1	Dr. Bambang Cahyono	0016036303	Kimia Bahan alam	15	Mengkordinir semua kegiatan, analisis data Penulisan artikel ilmiah
2	Dr. Meiny Suzery	0010056003	Analisis instrumen	10	Ekstraksi dan proses pemisahan Analisis UV dan TLC densitometri

Keikutsertaan mahasiswa					
1	Galih Saputra	Undip		6	Membantu analisis dan umum
2	Christina Dewi	Undip		6	Membantu analisis dan umum
3	Ratri	Undip		6	Membantu analisis dan umum

LAMPIRAN 3. Ketersediaan Sarana dan Prasarana

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium terpadu Universitas Diponegoro dan Kimia organik di Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Secara lebih lengkap untuk menjamin bahwa penelitian ini akan sesuai dengan yang telah direncanakan dapat diuraikan kemampuan/ kapasitas sarana yang ada.

N o	Sarana	Kegiatan	Kapasitas	Tempat	INSTITUS I	% Dukungan Untuk Menunjang Kegiatan
1	Evaporator	Pemurnian	2 Unit	Lab Terpadu	UNDIP	90%
2.	Oven	Isolasi	2 Unit	Lab Terpadu	UNDIP	100%
3.	UV-VIS	Identifikasi	2 Unit	Lab Terpadu	UNDIP	100%
4.	TLC	Identifikasi	2 Unit	Lab Terpadu	UNDIP	100 %
	HPLC	Isolasi	1 Unit	Lab Biokimia	UNDIP	100%

LAMPIRAN 4. Biodata peneliti

A. Ketua Peneliti

Dr. Bambang Cahyono.

Date of Birth: March 16th, 1963

Place of Birth: Kudus, Central Java, Indonesia

Office Address: Department of Chemistry, Faculty of Science and Mathematics, Diponegoro University, Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang - Indoensia

Telephone/Fax: +62-24-76480824, 7640033, 7640041

Email: cahyono@live.undip.ac.id or bbc_cahyono@yahoo.com

Education:

- B.Sc.: Bandung Institute of Technology (Institut Teknologi Bandung-ITB), Major: Organic Chemistr, (1982-1984).
- Sarjana: Bandung Institute of Technology (Institut Teknologi Bandung-ITB), Major: Organic Chemistry, (1982-1984). Thesis: Analysis of Toksoflavin by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- Magister.: Bandung Institute of Technology (Institut Teknologi Bandung-ITB). Major: Organic Chemistry, (1987-1989). Thesis: Hypochlorination of Cinnamic Acid
- Ph.D: Ecole Nationale de Chimie a Montpellier (ENSCM), France, research domain Synthesis Organic Chemistry. Major: Natural Products, (1993-1997). Thesis: Demethylation of ammonium salts by Lithium diphenilpospide (Prof H.J Cristau & Dr. Francoise Plenat)

ID identification

SCOPUS:57200169942, SINTA: 6029496, ORCID: 0000-00020-9800-6683,

GOOGLE SCHOOLAR: sdWHz4AAAAJ&hl=en

Field: Science

Applied Organic Chemistry of Natural Products
(Standardization of bioactive compounds)

Publications:

1. Cahyono B. Ariani J. Failasufa H. Suzery M. Susanti, and Hadiyanto H. 2019. Evaluation on the Composition of three homologous compounds of curcuminoid isolated from temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) growing in central java region, Indonesia. *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(1), 7-13. <http://rasayanjournal.co.in/current-issue.php>

2. Cahyono B., Suzery M., Hadiyanto H., Pratiwi S.B. 2018. "Encapsulation Rutin with Citosan-NATPP Using Coaservation Method", *Reaktor*, 17 (4),215-220. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/reaktor/article/view/17226>
3. Cahyono, B. A'yun Q., Suzery M., Hadiyanto H. 2018. "Characteristics of eugenol loaded chitosan-tripolyphosphate particles as affected by initial content of eugenol and their invitro release characteristic", *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 349, 012010 <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/349/1/012010/pdf>
4. Swastawati F., Ambaryanto A., Cahyono, B., Wijayanti I., Chilmawati D., 2018, "Characterizations of milkfish (*Chanos chanos*) meatballs as effect of nanoencapsulation liquid smoke", *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 116, 012027 <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/116/1/012027/pdf>
5. Widayat W., Cahyono B., Satriadi H., and Munfarida S., 2018. *Antioxidant activity and total phenolic content in Red Ginger (*Zingiber officinale*) based drinks*, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 102, 012025 <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/102/1/012025/pdf>
6. Swastawati F., Cahyono B, Setiono I, Kurniasih R.A. 2017. "Penguatan Usaha Pengasapan Ikan "Kub Asap Indah", Desa Wonosari, Kecamatan Bonang, Kabupaten Demak Dengan Teknologi Pengemasan Vakum", *Jurnal Info*, 19 (1), 34-45 <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/info/article/view/2184/1382>
7. Suzery, M., Cahyono, B. And Astuti, P. 2017. The Acute Toxicity Test of Methanolic Extract of *Hyptis pectinata* Poit on Liver Balb/c Mice. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 172 012029 <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/172/1/012029/pdf>
8. Siahaan P., Lalita M.N.T, Cahyono B, Laksitorini M.D. and Hidayani S.Z. 2017. "Ab initio computational study of reaction mechanism of peptide bond formation on HF/6-31G(d,p) level", *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 172 012029 <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/172/1/012040>
9. Swastawati F., Cahyono B., Wijayanti I., 2017. *Perubahan karakteristik kualitas ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan metode pengasapan tradisional dan penerapan asap cair*, *Jurnal Info*, 19(2), 55-54 <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/info/article/view/2193/1384>
10. Lelyana R. and Cahyono B. 2015. Total phenolic acid contents in some commercial brands of coffee from Indonesia, *J. Med. Plant. Herbal. Ther. Res.* 3(4): pp. 27-29 http://www.bluepenjournals.org/jmphtr/contents/2015/August/Vol._3_Issue_4.php
11. Prahesti N.R, Suzery M. and Cahyono, B. 2015. "The Antioxidant Activities, Phenolic Total and Cytotoxicity of Extract and Fractions of *Aloe Vera* Linn" *Jurnal Sains dan Matematika*. 23 (2): 50-54. <http://www.ejournal.undip.ac.id/index.php/sm/article/view/9171/pdf>
12. Cahyono B., Maduwu RD., Widayat W., and Suzery M. 2015. "Regenerated Silica Gel as Stationary Phase on Vacuum Column Chromatography to Purify

- Temulawak's Extracts" *AIP Conference Proceedings* 1699, 060022; doi: 10.1063/1.4938376
<http://scitation.aip.org/content/aip/proceeding/aipcp/10.1063/1.4938376>
13. Auliawan R., Cahyono, B., 2015. "Efek Hidrolisis Ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase". *Jurnal Sains dan Matematika* 22 (1), 15-19
<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/sm/article/viewFile/8052/6602>
 14. Meiny Suzery and Bambang Cahyono. "Evaluation of Cytotoxicity Effect of *Hyptis pectinata* Poit (Lamiaceae) extracts using BSLT and MTT methods" *Jurnal Sains dan Matematika*. Vol. 22 (3): 82-86 (2014)
<http://ejournal.undip.ac.id/index.php/sm/article/view/9002/7293>
 15. Cahya Perwiratami, Meiny Suzery and Bambang Cahyono. 2017 "Korelasi fenolat total dan flavonoid total dengan antioksidan dari beberapa sediaan ekstrak buah tanjung (*Mimusops elengi*)" *Chem. Prog.* 7(1).
<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/chemprog/article/view/4853>
 16. Judiono J., Suharyo Hadisaputro, Indranila K.S., Bambang Cahyono, Meiny Suzery, Yuliati Widiastuti and Asep Iwan Purnawan. 2014. "Effects of Clear Kefir on Biomolecular Aspects of Glycemic Status of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Patients in Bandung, West Java [Study on Human Blood Glucose, c Peptide and Insulin]" *Functional Foods in Health and Disease*. 4(8):340-348. Open Access
<http://functionalfoodcenter.net/files/93265863.pdf>

International Conferences:

1. Cahyono, B. Isnaning, C.A. Suzery, M. (2012). "Analisis kandungan senyawa fenolat, flavonoid dan aktivitas antioksidan buah kemloko (*Phyllanthus emblica L.*)", Proceeding Seminar Nasional Kimia III (HKI) Semarang 20 Maret 2012 (ISBN No. 978 602 8467 81 0, p. 30-38)
2. Widayat W, Hilman M, Nurdiana L, hadiyanto H, Ngadiwiyan, N & Cahyono B, Setriadi, H, Fractional distillation of clove oil at vacuum pressure. "International Conference on Education Technology and Science (Proceeding)", Purwokerto, December 28th, 2013
3. Optimatimization in Eugenol Production from Clove oil with saponification-netralization process by using surface response methods. ChemPro. International Seminar on Chemical Engineering. Bandung, 30-31 October 2014

Books:

1. B. Cahyono dan M. Suzery. 2018. "Pemisahan Bahan Alam. Aspek Teoritis dan Praktis", Kompas Ilmu, Jakarta. ISBN No. 9786023433414, 126 halaman
2. B. Cahyono dan M. Suzery, 2004. "Kimia Organik Fisik" Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang, ISBN No. 979-704-253-7 (83 halaman)

Patent and Commercial Products:

1. **Granted Patent.**
 - a. Formula penurun gula darah dan memperbaiki fungsi ereksi hasil sinergi kefir,purwoceng dan cabe jawa (2018, IDP000053594, granted)
 - b. Pemanfaatan limbah pertanian untuk asap cair dan rancangan instalasi peralatan untuk pelaksanaanya (2014, IDP000037276, granted),
2. **Merk.** La Fronthea (liquid smoke, HKI No. D002017012466)
3. **Campus industry (PT Asap Cair Multiguna,** Kepmen Hukum dan HAM, No. AHU-0010493.AH.01.01 Tahun 2017)
4. **Commercial Products.** Purwoceng Teh Celup (Reg. No. 310337404613), Kelapa Kopyor (kemasan botol, Reg. No. 105337401613), VCO Rasa Strawberry (Khusus untuk anak Indonesia, Reg. No. 205337402613), Rosela teh celup (Reg. No. 310337403613), Minuman Cabe Jawa (efervesen Afroretrofractum, Reg. No. 611337405613)

Training:

1. Training of ISO 17025, Diponegoro University, 2016-2018**Research Projects:**
 1. Standarization of Indonesian herbal of Jamu (2015-recent)
 2. Formulation and encapsulation of bioactive compounds (2017-recent)
 3. Development of liquid smoke Liquid smoke (2012-recent, colaboration with Fronthe swastawati)
 4. Development and Utilization of the Traditional Medicinal Plants Typical Java That has the Potential to Increase Sexuality and Vitality (Member) - (2009-2017)
 5. Sistem Terintegrasi, Komprehensif Dan Dijamin Mutunya Secara Berkelanjutan Di Ranah Peningkatan Kolaborasi Antara Perguruan Tinggi, Dunia Usaha Dan Pemerintah Daerah Melalui Pengembangan Institut Obat Bahan Alam. Output: Dratt Peraturan Gubernur mengenai Penggunaan Bahan Baku Obat yang bermutu”, 2008
 6. Scientific studies of Coconut Processing (Kelapa Kopyor, 2006)

Community Services:

Process and products Standardization of UMKM, 2017-recent
Training processing of natural productss for high school teachers and students in Central Java (2011-recent)
Jamu Analysis Training for Industry (2010)
Entrepreneurial internship (2007)
Development Test Laboratory Training for Central Java Disbun (2012)

Awards and Achievements:

1. Best poster presentation in MP3EI by Higher Education (Dikti), 2015
2. Medal 25 Years (Satya Lencana 25 Tahun) by Rector of Diponegoro University, 2012
3. Medal 10 Years (Satya Lencana 10 Tahun) by President of the Republic of Indonesia, 2004
4. Outstanding Lecturer III Diponegoro University (Achievement 1 Faculty of science and mathematics, Diponegoro University), 2006
5. Best Research in Basic Research by Higher Education (DIKTI, DP4M), 2002

Semarang, Februari 2020

Yang Menyatakan

Dr. Bambang Cahyono, M.S.
NIP196303161988101001

ANGGOTA PENELITI

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Dr. Meiny Suzery, MS
2	Jenis Kelamin	Perempuan
2.	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
3.	NIP/NIK/No. identitas lainnya	1960 05 10 1989 03 2 001 NIDN 0010056003
4.	Tempat dan Tanggal Lahir	Padang, 10 Mei 1960
5.	Alamat email	Meiny_suzery@undip.ac.id
6.	Nomor Telepon/HP	024-7476852/0815290810508
8.	Alamat Kantor	Jurusan Kimia MIPA UNDIP, Jl. Prof Sudarto Semarang 50275
9.	Nomor Telepon/Fax	024-76480824
11.	Lulusan yg telah dihasilkan	S1= 40 orang
12	Mata Kuliah yg diampu	1. Obat Tradisional 2. Kimia Organik 3. Kimia Bahan Alam

B. Riwayat Pendidikan

Program:	S1	S2	S3
Nama PT	Andalas	ITB	Undip
Bidang Ilmu	Kimia Organik	Kimia Organik	
Tahun Masuk	1981	1986	2006
Tahun Lulus	1985	1989	2012
Judul Skripsi/ Tesis/Disertasi	Skreening Fitokimia Hutan Ladang Padi dan Isolasi	Transformasi Hiptolida	Pengaruh ekstrak purwoceng dalam meningkatkan indicator fungsi ereksi
Nama Pembimbing/ Promotor	Prof. Yunazar Manjang	Prof. Syamsul Arifin Achmad	Prof. Susilo Wibowo, SpAnd

C. Pengalaman Penelitian

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Rp)
1	2011-2012	Hubungan struktur dan aktivitas antikanker senyawa hiptolida dan turunannya	Fundamental	73 juta
2	2013-2014	Laju proliferasi dan daya apoptosis senyawa bahan alam hiptolida	Fundamental	71 juta
3	2015-2016	Uji preklinik ekstrak <i>hyptis pectinata</i> sebagai ajuvant terapi beast cancer	Startegi nasional	175 jt

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat

No	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Rp)
1	2012	Pelatihan Pengembangan Laboratorium Uji untuk Disbun Jateng	Disbun	7 Juta
2	2016	IbM bagi UKM kerupuk Karak di Kota Semarang	RistekDIKTI	40 jt

E. Penulisan Artikel Ilmiah Dalam Jurnal

No.	Tahun	Judul Penelitian	Majalah
1	2012	M Suzery, E. Kusniawati, D Hudyanti, B Cahyono, Sintesis senyawa C ₁₉ H ₂₆ O ₉ dari hiptolida hasil isolasi dari Daun <i>Hyptis pectinata</i> Poit	<i>Reaktor</i> (accredited), 14(1), hal 68-72
2	2013	M Suzery, C Agustina , B Cahyono, Potensi ekstrak fraksi buah kemloko (<i>Phylanthus emblica</i>) sebagai sumber antioksidan	<i>Molekul, 8 (2), 167-177</i>
3	2014	Judiono J, Hadisaputro S, Indranila KS, Cahyono B, Suzery M, Widiastuti Y, Purnawan A I, Effects of Clear Kefir on Biomolecular Aspects of Glycemic Status of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Patients in Bandung,	<i>Functional Foods in Health and Disease 2014; 4(8):340-348</i>

		West Java [Study on Human Blood Glucose, c Peptide and Insulin]	
4	2014	Perwiratami C, Suzery M. And Cahyono B., Korelasi Fenolat total dan flavonoid Total dengan antioksidan dari beberapa sediaan ekstrak buah Tanjung (<i>Mimusops elengi</i>)	<i>Chem Progress</i> , Vol 7, No 1, 2014
5	2014	Evaluation of Cytotoxicity Effect of <i>Hyptis pectinata</i> Poit (Lamiaceae) extracts using BSLT and MTT methods	Jurnal sains dan Matematika Vol 22 no 3 hal 82-86
6	2015	Agustini T.W, Suzery M., Sutrisnanto D., Maaruf W.F.,and Hadiyanto, Comparative Study of Bioactive Substance Extracted from Fresh and Dried <i>Spirulina Sp</i>	<i>Procedia Enviromental Sciences</i> , 21 (2015): 282-289
7	2015	Meiny Suzery, Hadiyanto, Heri Sutanto, Danny Soetrisnanto, Dian Majid, Deny Setyawan, and Nur Azizah, The improvement of phycocyanin stability extracted from <i>Spirulina sp</i> using extrusion encapsulation technique	AIP Conference Proceedings 1699 , 030011 (2015); doi: 10.1063/1.4938296
8	2015	Bambang Cahyono, Ratna Dewi Maduwu, Widayat, and Meiny Suzery Regenerated silica gel as stationary phase on vacuum column chromatography to purify temulawak's extracts	AIP Conference Proceedings 1699, 060022 (2015); doi: 10.1063/1.4938376
9	2016	Tri Winarni Agustini, Widodo Farid Ma'rufa, Widayat, Meiny Suzery, Hadiyanto, Soottawat Benjakul Application of <i>Spirulina platensis</i> on ice cream and soft cheese with respect to their nutritional and sensory prespectives	Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering) 78:4–2 (2016) 245–251
10	2016	Hadiyanto1, Sutrisnohadi, Heri Sutanto, and Meiny Suzery,	Songklanakarin J. Sci. Technol.

Phycyanin extraction from
microalgae Spirulina platensis assisted
by ultrasound irradiation: effect of
time and temperature

38 (4), 391-398, Jul. - Aug.
2016

- 11 2017 Susanti S, Kumoro C, Santoso I,
 Murwanti R, Suzery M, Oku H

Comparison on the Cancer Specific
Cytotoxicity of Three Gingers
(*Zingiber officinale Rosc*) Leaves
Varieties from Indonesia
- International Journal of
Pharmacognosy and
Phytochemical Research
2017; 9(1); 129-134

D. Pemakalah Seminar Nasional

No	Nama Pertemuan	Judul artikel	Waktu dan Tempat
1	INSPA (2 nd International seminar)	M. Suzery, Taufiqurachamn, Riwanto, Wibowo S., Supplementation extract of Purwoceng (<i>Pimpinella alpina</i>) Molk increases cGMP level of male Sprague Dawley	Semarang, November 2012
2	Simposium HKBAI	Suzery M, Cahyono B., Hypolide and ethanolic extracts <i>Hyptis pectinata</i> Poit as potent MCF-7 anticancer	Makasar, 2-5 September 2013
3	9 Th Joint Chemistry conference on Chemistry	Suzery M,,and Cahyono B., Hypoide Administration on Breast Cancer Adrenocarcinoma Female C3H Mice Imunostimulatory (in vivo study)	Semarang, 12-13 November 2014
4	10 Th Joint Chemistry conference on Chemistry	Invitro and invivo evaluation of anticancer activity of ethanolic extract from <i>Hyptis pectinata</i> Poit (Lamiaceae)	Solo, 8-9 th September 2015
5	11 Th Joint Chemistry conference on Chemistry	Acute toxicity test of <i>Hyptis pectinata</i> Oit on liver in Balb/c mice	Purwokerto, 15 th -16 th September 2016

6	The 2nd international conference on Tropical and coastal region eco-developmnet	Encapsulation of phycocyanin-alginate with stability and high antioxidant activity	Bali, Oct 25 th -27 th , 2016
----------	---	--	---

E. Karya Buku

No	Judul	Tahun	Jumlah hal	Penerbit
1	Aspek Praktis Pemisahan Bahan Alam Organik	2012	135	Badan Penerbit Universitas Diponegoro
2	Kimia Obat tradisonal	2013	In press	

F. Pengalaman HKI

No.	Tahun	Judul/Tema HKI	Jenis	Nomor
1	2008	Produk Karminatif efervesen dari piper	Patent	P00200800451
2	2010	Produksi Formula Afrodisiaka dari Piper retrofractum	Patent	S00201000040

G. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial Lainnya yang telah diterapkan	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat
1	2006	Dratt Peraturan Gubernur mengenai Penggunaan Bahan Baku Obat yang bermutu” (Hasil dari FGD Sistem tataniaga obat tradisional), Anggota Program	Jawa Tengah	Sangat baik

J. Penghargaan dalam 10 tahun terakhir

No	Jenis penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
2	Dosen Berprestasi III FMIPA UNDIP)	Universitas Diponegoro	2006
3	Satya Lencana 10 Tahun	Presiden RI	2004

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya.

Semarang, Februari 2020

Dr. Meiny Suzery
NIP 19600510 1989 03 2 001