

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Salam

Tanaman salam merupakan tanaman berkayu yang biasanya dimanfaatkan daunnya. Tanaman salam sudah dikenal sejak lama sebagai bumbu masakan. Tanaman salam dapat dimanfaatkan sebagai ramuan obat tradisional. Tanaman salam memiliki khasiat pengobatan yang luar biasa yang biasanya digunakan untuk pengobatan hipertensi, diabetes melitus, asam urat, diare, maag, katarak, mabuk akibat alkohol, sakit gigi, kudis dan gatal-gatal karena memiliki sifat kimia yang berguna dalam bidang medis (Sudirman, 2014:6).

#### 1. Penyebar Tanaman Salam

Tanaman salam menyebar di Asia Tenggara, mulai dari Burma, Indocina, Thailand, Semenanjung Malaya, Sumatra, Kalimantan, Jawa, Ambon, NTT, dan Manado. Pohon ini ditemukan tumbuh liar di hutan-hutan primer dan sekunder, mulai dari tepi pantai hingga ketinggian 1000m (di Jawa), 1200m (di Sabah), 1300m (di Thailand). Disamping itu tanaman salam ditanam di kebun-kebun pekarangan dan lahan-lahan wanatani yang lain, terutama untuk diambil daunnya.

Klasifikasi tanaman salam

Taksonomi tanaman salam adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Super divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub kelas : *Rosidae*

Ordo : *Myrtales*

Famili : *Myrtaceae*

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium Polyanthum (Wight) Walp* (Putra, 2015:9).



Gambar 2. 1 Tanaman Salam.

Sumber : dokumentasi pribadi

## 2. Morfologi Tanaman Salam

### a. Akar salam

Tanaman salam memiliki akar tunggang, berbentuk sebagai tombak karna pangkalnya besar dan meruncing ke ujung dengan serabut-serabut akar sebagai percabangan atau biasa disebut akar tombak (Mahardianti, 2014:8).



Gambar 2. 2 Akar Salam.

Sumber : <https://images.app.goo.gl/cFbpGdNma9nibvji8>

### b. Batang salam

Tanaman salam memiliki batang tegak lurus dengan bentuk batang bulat dan permukaan yang beralur, batang berkayu keras dan kuat. Percabangannya monopodia, batang pokok selalu tampak jelas, memiliki arah tumbuh cabang yang tegak (Mahardianti, 2014:8).



Gambar 2. 3 Batang Salam.

Sumber : dokumentasi pribadi

c. Daun salam

Tanaman salam memiliki bentuk daun yang lonjong sampai elip atau bundar telur sungsang dengan pangkal lancip, sedangkan ujungnya lancip sampai tumpul dengan panjang 50 mm sampai 150 mm, lebar 35 mm sampai 65 mm, dan terdapat 6 sampai 10 urat daun lateral. Panjang tangkai daun 5 mm sampai 12 mm. Daun salam merupakan daun tunggal yang letaknya berhadapan. Permukaan daunnya licin dan berwarna hijau muda dan jika diremas berbau harum ( Mahardianti, 2014:9).



Gambar 2. 4 Daun Salam.

Sumber : dokumentasi pribadi

d. Bunga salam

Bunga tanaman salam kebanyakan memiliki bunga banci dengan kelopak dan mahkota masing-masing terdiri atas 4-5 daun kelopak dan jumlah daun mahkota sama, kadang-kadang berlekatan. Bunganya memiliki banyak benang sari, kelopak berhadapan dengan daun-daun mahkota. Tangkai sari berwarna cerah, yang kadang-kadang menjadi bagian bunga, bakal buah tenggelam dan mempunyai 1 tangkai putik (Mahardianti, 2014:9).



Gambar 2. 5 Bunga Salam.

Sumber : <https://steemit.com/life/bunga-daun-salam-dan-manfaat-daun-salam>

e. Buah salam

Buah tanaman salam termasuk buah buni dengan diameter 8-9 mm, buah yang masih muda berwarna hijau dan setelah masak menjadi merah gelap, dan memiliki rasa agak sepat (Mahardianti, 2014:10).



Gambar 2. 6 Buah Salam.

Sumber : <https://www.healthy99.com/2020/10/Manfaat-Buah-Salam-Untuk-Tubuh.html>

3. Manfaat Tanaman Salam

Tanaman salam digunakan terutama sebagai rempah pengharum masakan di sejumlah negara Asia Tenggara, baik untuk masakan daging, ikan, sayur mayur, maupun nasi. Daun ini dicampur dalam keadaan utuh,

kering ataupun segar dan turut dimasak hingga masakan matang. Rempah ini memberikan aroma yang khas. Kayunya berwarna coklat jingga kemerahan dan berkualitas menengah. Kayu yang tergolong dalam ketapang (nama dalam perdagangan) dapat digunakan sebagai bahan bangunan dan perabot rumah tangga. Kulit batang mengandung tanin, masyarakat sering menggunakannya sebagai ubar (mewarnai dan pengawetan) jala dan anyaman dari bambu. Daun salam efektif menurunkan kadar gula darah, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolesterol darah, menurunkan kadar asam urat, mengobati sakit maag (*gastritis*), gatal-gatal (*pruritis*), kudis (*scabies*), dan eksim. Selain daunnya, kulit batang atau kulit pohon dan buah salam juga dapat digunakan sebagai obat antidiare. Buah salam dapat menetralkan efek mabuk karena mengonsumsi alkohol terlalu banyak (Holo, 2019:11).

Kandungan utama senyawa kimia daun salam adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu mencegah terjadinya oksidasi sel tubuh. Semakin tinggi oksidasi dalam tubuh, maka semakin tinggi kemungkinan seseorang untuk menderita penyakit degeneratif, maka dari itu flavonoid memiliki kandungan yang dapat mencegah terjadinya hipertensi dan menurunkan kolesterol darah (Syukrowardi, 2019:12). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki manfaat sebagai antivirus, antimikroba, antialergik, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh. Flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu kuersetin dan fluoretin. Oleh karena memiliki kandungan senyawa kimia yang banyak, daun salam sering digunakan untuk mengobati penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi, dan kolesterol dengan menurunkan kadar kolesterol total dan masih banyak penyakit lainnya (Novira, 2018:289). Selain itu, daun salam juga mengandung beberapa vitamin, diantaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin B6, vitamin B12, thiamin, riboflavin, niacin, dan asam folat. Beberapa mineral yang terkandung di dalam daun salam yaitu zat besi, fosfor, kalsium, magnesium, selenium, seng, natrium dan kalium (Harismah, 2017:112).

#### 4. Metabolit sekunder yang terkandung didalam daun salam

Bahan alam memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai zat antibakteri dan antioksidan dikarenakan pada tumbuhan umumnya memiliki senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, tanin, minyak atsiri, dan alkaloid yang memiliki efek sebagai antibakteri dan antioksidan, pada senyawa flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan berperan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri. Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu (Reo, Berhimpon, Montolalu, 2017:43). Tumbuhan memanfaatkan metabolit sekunder yang disintesisnya untuk pertahanan terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Jumlah dan jenis metabolit sekunder yang disintesis oleh tumbuhan bervariasi baik kadar maupun jenisnya. Manusia memanfaatkan metabolit sekunder untuk berbagai tujuan, namun paling banyak dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan (Silalahi, 2017:191).

Berdasarkan beberapa penelitian, daun salam (*syzygium polyanthum*) diketahui mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, fenolik, alkaloid, steroid dan terpenoid (Wilapangga dan Sari, 2018:19). Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder golongan polifenol yang memiliki kemampuan berperan sebagai antioksidan dengan penangkalan senyawa radikal bebas. Hal ini dikarenakan flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas (Ridho, 2013:6).

## B. Senyawa Metabolit Sekunder

Adapun jenis-jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yaitu :

### 1. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai sistem lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Namun terdapat beberapa alkaloid yang tidak mengandung oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali. Tumbuhan dikotil adalah suatu sumber utama alkaloid (Adigunawan, 2018:11).

Retnowati, Bialangi, Posangi (2016) dalam penelitian Adigunawan (2018) menyatakan senyawa alkaloid memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Terganggunya sintesis peptidoglikan menyebabkan pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel, sehingga menyebabkan kematian sel.

### 2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti  $C_6-C_3-C_6$  yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini dapat dimasukkan sebagai senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa (Hanani, 2015:103)

Flavonoid merupakan golongan fenol, golongan senyawa flavonoid bersifat tidak tahan panas, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Salah satu fungsi flavonoid adalah sebagai antimikroba yang bersifat bakteriostatik. Senyawa fenol yang dikenal sebagai zat antiseptik dapat membunuh sejumlah bakteri. Sifat senyawa

fenol yaitu mudah larut dalam air, cepat membentuk kompleks dengan protein dan sangat peka pada oksidasi enzim (Retnowati, Bialangi, Posangi, 2011 dalam Adigunawan, 2018:13). Mekanisme flavonoid yaitu dengan mengganggu proses difusi makanan ke dalam sel sehingga pertumbuhan bakteri terhenti atau mati. Dalam tumbuhan senyawa flavonoid tersebar hampir pada semua bagian tumbuhan baik pada akar, daun, kulit kayu, bunga, buah, ataupun biji (Hanani, 2015:106).

Flavonoid mempunyai 6 golongan, yaitu flavon, isoflavon, flavanon, flavonol, khalkon, dan antosianidin. Penggolongan flavonoid ini berdasarkan pada perbedaan struktur kimianya, yaitu substituent cincin heterosiklik mengandung oksigen dan distribusi gugus hidroksil. Oksigenasi pada atom C3 menentukan sifat, khasiat, dan golongan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang bersifat antioksidan (Ariyanti, 2017:11).

Kandungan flavonoid dalam daun salam yaitu kuersetin. Kuersetin dapat menghambat oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) atau kolesterol jahat yang telah dimodifikasi makrofag, yaitu dengan mengurangi kandungan  $\alpha$ -tocopherol yang terkandung dalam partikel LDL (Ekananda, 2015:66).

### 3. Kuersetin

Kuersetin merupakan salah satu zat aktif flavonoid golongan flavonol yang memiliki aktivitas biologis yang kuat. Apabila vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan 1, maka kuarsetin memiliki aktivitas antioksidan 4,7. Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar dengan kandungan kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan mengkelat ion logam transisi (Rustanti dan Qurrotu, 2018:39).



#### 4. Saponin

Saponin ada pada seluruh tanaman dan ditemukan dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu yang dipengaruhi oleh varietas tanaman dan pertumbuhan. Saponin yang tergolong kedalam steroid aglikon terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, gugus ini dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatile dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Illing, Safitri, Erfiana, 2017:71). Aktivitas antibakteri senyawa saponin yaitu dengan mengubah tegangan permukaan dan mengikat lipid pada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu (Wardhani dan Sulistyani, 2012:11).

#### 5. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yang mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida, dan terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam. Tanaman yang mengandung tanin memiliki rasa pahit, bau yang kuat, dan efek toksik. Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tanin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis. Tanin juga memiliki sifat dapat menginaktifkan adhesin sehingga bakteri tidak dapat melekat pada sel inang dan menginaktifkan enzim protease. Selain itu, tanin juga dapat mendestruksi materi genetik pada bakteri sehingga dapat menambah toksisitasnya pada bakteri (Adigunawan, 2018:14).

#### 6. Steroid

Steroid merupakan senyawa yang struktur kimianya mengandung cincin atau lingkaran siklopentane perhidrofenantrena. Lingkaran siklopentano perhidrofenantrena merupakan kombinasi antara lingkaran siklopentana dan lingkaran perhidrofenantrena (fenantrena jenuh) (Adigunawan, 2018:15).

Menurut Madduluri dan Ahmed (2017) mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran. Steroid juga diketahui dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid. Karena sifatnya yang permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik menyebabkan integritas membran menurun dan morfologi membran sel terganggu yang mengakibatkan sel mengalami lisis dan rapuh.

#### 7. Terpenoid

Terpenoid merupakan turunan terpena atau senyawa-senyawa yang strukturnya mirip terpena. Molekul terpenoid dapat mengandung gugus karboksil, hidrosil, formil, atau gugus yang lain. Terpena dan turunannya dikenal sebagai terpenoid yang merupakan komponen dari minyak yang terdapat didalam bunga-bunga, daun-daun, dan akar-akar berbagai jenis tanaman. Senyawa terpena dan turunannya juga terdapat didalam kayu, misalnya dalam kayu kapur barus, dan kayu cendana atau dalam getah dammar pohon pinus (Adigunawan, 2018:16).

#### 8. Minyak Atsiri

Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Sebagai antibakteri minyak atsiri mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk. Minyak atsiri termasuk kedalam turunan fenol. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015:15). Minyak atsiri dapat bersumber pada setiap bagian tanaman yaitu dari daun, bunga, biji, batang atau kulit dan akar atau *rhizoma*. Minyak atsiri disebut juga minyak eteris yaitu minyak yang mudah menguap dan diperoleh dari tanaman dengan cara penyulingan, biasanya tidak berwarna terutama bila masih dalam keadaan segar, setelah

terjadi proses oksidasi dan pendamaran makin lama akan berubah menjadi gelap, untuk menghindarinya harus disimpan dalam keadaan penuh dan tertutup rapat (Utami, 2015:19).

#### 9. Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hidrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan. Pada uji glikosida digunakan pelarut asam asetat anhidrat dan asam sulfat, positif terjadi warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida (Julianto, 2019:71).

#### 10. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan dengan karakteristik memiliki cincin aromatic yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (OH). Dalam tumbuhan fenolik memiliki beberapa fungsi yaitu, sebagai pembangun dinding sel, sebagai pertahanan (antioksidan), dan sebagai pengendali tumbuh. Senyawa fenolik memiliki mekanisme sebagai antioksidan yaitu melalui akibat kemampuan dari gugus fenol untuk mengikat suatu radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenolik. Pada uji senyawa fenolik digunakan penambahan larutan  $\text{FeCl}_3$ , positif menunjukkan warna coklat saat direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  (Julianto, 2019:35).

### C. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dan dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi meliputi tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Hasanan, 2015:12). Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Marjoni, 2016:17).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut:

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar : air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semi polar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut non polar : n-heksan, petrole-um eter, kloroform, dan sebagainya (Tetti, 2014:362).

Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain:

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstrak senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam,

karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Hasrianti, 2017:14).

Keuntungan dari metode ini ialah peralatannya yang sederhana, sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengestrak sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak (Hasrianti, 2017:14). Prinsip kerja maserasi yaitu proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut. Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai dalam waktu beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya (Marjoni, 2016:40).

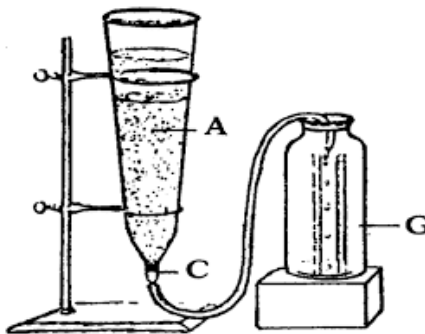


Gambar 2.7 Contoh ekstraksi dengan maserasi.

Sumber : <https://images.app.goo.gl/sqSaETKvdwybZzXi9>

## 2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Hasrianti, 2017:15). Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Tetti, 2014:363).



Gambar 2.8 Alat perkolasi : A. Perkolator, C. Keran, G. Botol perkolat.

Sumber : <https://images.app.goo.gl/KVXx26pbXATY8CSL9>

### 3. Soxhlet

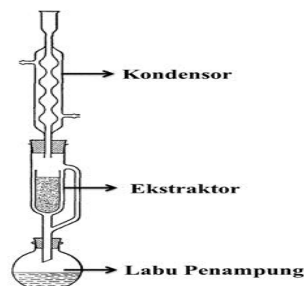
Soxhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan. Ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung (Hanani, 2015:11). Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Tetti, 2014:363).

Menurut Atun (2014) soxhletasi adalah metode pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam suatu contoh berbentuk padatan dengan cara penyarian berulang, menggunakan pelarut tertentu dengan memakai alat soxhletasi. Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut yang selalu baru dan alat soxhlet sehingga terjadi ekstraksi secara konstan dengan adanya pendingin balik. Teknik ini dilakukan dengan cara menempatkan simplisia

pada selongsong dengan pembungkus kertas saring, lalu ditempatkan pada alat soxhlet yang telah dipasang labu dibawahnya (Marjoni, 2016:65).

Prinsip soxhletasi merupakan proses ekstraksi dari senyawa kimia yang terdapat dalam bahan alam yang menggunakan pelarut yang mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa kimia yang terdapat dalam bahan alam tersebut dengan cara penyarian berulang-ulang. Keuntungan pada metode soxhletasi ini yaitu, sampel dapat diekstraksikan secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang, waktu yang digunakan lebih efisien, proses soxhletasi berlangsung cepat, dan pelarut lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi (Marjoni, 2016:70).

Menurut Najoran (2016) metode ekstraksi soxhlet pada daun salam yaitu, sampel daun salam dibungkus dikertas saring lalu diikat dan dimasukkan kedalam ekstraktor soxhlet. Pelarut dimasukkan kedalam labu bulat, kemudian alat ekstraksi soxhletasi dirangkai dengan kondensor, ekstraksi dilakukan hingga cairan tidak bewarna. Ekstraksi yang didapat dievaporasi menggunakan *evaporator* pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak kering.

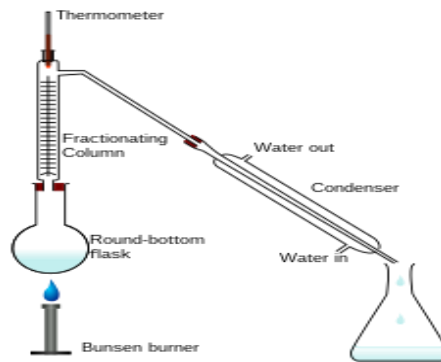


Gambar 2.9 Alat Soxhlet.

Sumber : <https://generasibiologi.com/2016/02/ekstraksi-bahan-alam.html>

#### 4. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Tetti, 2014:363).



Gambar 2.10 Alat refluks.

Sumber : <https://id.wikipedia.org/wiki/Refluks>

## 6. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Menurut Herbie (2015) simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu:

### 1. Simplisia nabati

Simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya.

### b. Simplisia Hewani

Simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum icoriss asseli*) dan madu (*Mel depuratum*).

### c. Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga.



#### D. Antioksidan

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan berpotensi mengurangi risiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya, sehingga dapat bereaksi dengan molekul-molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut. Oleh karena secara kimia molekulnya tidak lengkap, radikal bebas cenderung mengambil partikel sel dari molekul lain, yang kemudian menimbulkan senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh (Wijaya; *et al.*, 2019:101).

Antioksidan dapat mencegah kerusakan seluler yang dapat timbul dari reaksi kimia akibat radikal bebas dimana diketahui radikal bebas berperan penting dalam patofisiologi penyakit umum seperti aterosklerosis, gagal ginjal kronik, dan diabetes melitus. Ketersediaan antioksidan dalam tubuh harus terdapat dalam jumlah yang cukup untuk dapat menetralkan efek dari radikal bebas. Saat terjadi peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebihan, dibutuhkan antioksidan dari luar atau eksogen. Antioksidan eksogen dapat berasal dari makanan yang dikonsumsi (Rosidah, 2018:24). Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan antara lain  $\beta$  karoten, likopen, vitamin C, vitamin E (Inggrid dan Santoso, 2014:9).

Pada umumnya terdapat dua kelompok utama antioksidan eksogen yaitu antioksidan alami dan sintetik. Beberapa antioksidan sintetik diantaranya *Tert-butyl Hydro Quinone* (TBHQ), *Butylated Hydroxyl Toluene* (BHT), *Hidroksil Anisol* (BHA), dan *Propyl Gallate* (PG). Pada beberapa negara, tingkat penggunaan antioksidan sintesis diatur berdasarkan keamanan senyawanya pada studi toksisitas jangka panjang. Maka saat ini dikembangkan antioksidan alami untuk meminimalkan penggunaan

antioksidan sintetik (Rosidah, 2018:25). Antioksidan alami ditemukan pada sebagian besar tanaman, mikroorganisme, jamur dan jaringan binatang. Sebagian besar antioksidan alami adalah komponen fenolik dan kelompok fenolik yang paling penting dari antioksidan alami adalah flavonoid dan asam fenol (Salamah dan Widyasari, 2015:26).

Menurut Estinigntyas (2010) dalam penelitian Jannah (2021) kebanyakan senyawa antioksidan dapat diperoleh dari sumber alami adalah dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan adalah daun salam. Hal ini dikarenakan daun salam memiliki kandungan berbagai senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, fenol, alkaloid, minyak atsiri yang terdiri dari eugenol yang dapat menurunkan kadar kolesterol jahat (LDL) dan berfungsi sebagai antioksidan, senyawa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan. Flavonoid dapat bersifat sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas. Aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid karena adanya gugus hidroksil fenolik dalam struktur molekulnya juga melalui daya tangkap terhadap radikal bebas serta aktivitasnya sebagai pengkelat logam. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas.

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh. Jika nilai  $IC_{50}$  suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai  $IC_{50}$  berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai  $IC_{50}$  berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai  $IC_{50}$  berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Molyneux, 2004: 212).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode:

1. Metode DPPH

Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat

pada  $\lambda$  max 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan *spektrofotometer*, dan diplotkan terhadap konsentrasi (Aderiyanti, 2022:8). Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DDPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi. Keberadaan sebuah antioksidan yang mana dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Amanah, 2019:24).

Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal atau antioksidan. Uji kimia ini secara luas digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas. Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. (Palyendra, 2019:22).

Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan. Metode ini sangat cocok untuk skrining awal berbagai sampel, terutama ekstrak tumbuhan. Interpretasi hasil pengujian antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan variabel kapasitas antioksidan dan presentase penghambat. Kapasitas penghambat dihitung berdasarkan nilai *Inhibitor Concentration* ( $IC_{50}$ ), yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang memberi penghambatan sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kapasitas antioksidan, artinya semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi kapasitas antioksidan sampel tersebut. (Devitria, 2020:34).

## 2. Metode FRAP

Metode FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ menjadi Fe(II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ sendiri adalah colorants dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kekuatan antioksidan yang diuji menggunakan FRAP, tidak perlu melibatkan perlakuan pre-treatment, karena dianggap konstan dan linear dengan hasil pengujian. Pada pengujian FRAP. Idealnya sampel yang digunakan  $>3000\mu\text{M}$  dan dilarutkan pada air ataupun ethanol, dan dilakukan uji pengulangan dengan pengenceran bertahap untuk pengukuran nilai FRAP (Ainun; dkk, 2021).

## 3. Metode CUPRAC

CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) merupakan metode untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari daun yodium terhadap radikal bebas yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm. Pada pengujian CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*), reagen Cu(II)- neokuproin (Cu(II)-(Nc)<sub>2</sub>) digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. metode pengukuran kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode CUPRAC memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan metode pengukuran antioksidan yang lain yaitu reagen CUPRAC cukup cepat untuk mengoksidasi tiap jenis antioksidan, pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi selektif karena potensi redoksnya lebih rendah. Reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (ABTS, DPPH) (Aderiyanti, 2022:12-13).

## E. Spektrofotometer Uv-Vis

### a. Uraian Spektrofotometer Uv-Vis

*Spektrofotometer* sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. *Spektrofotometer* menghasilkan sinar dan

spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Suhaling, 2010:34).

*Spektrofotometri* merupakan salah satu metode analisis yang berdasarkan pada hasil interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Interaksi tersebut akan menghasilkan peristiwa berupa hamburan, serapan, dan emisi. *Spektrum UV-Vis* merupakan hasil interaksi radiasi *UV-Vis* terhadap molekul yang mengakibatkan molekul mengalami transisi elektronik, sehingga disebut spektrum elektronik. Hal ini didapat karena adanya gugus berikatan rangkap atau terkonyugasi yang mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah *UV-Vis* (Suhaling, 2010:35).

*Spektrofotometri UV-Vis* merupakan metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorpsi pada setiap panjang gelombang di daerah ultraviolet dan tampak. Dalam instrument ini suatu sinar cahaya terpecah sebagian cahaya diarahkan melalui sel transparan yang mengandung pelarut. Ketika radiasi elektromagnetik dalam daerah *UV-Vis* melewati suatu senyawa yang mengandung ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diabsorpsi oleh senyawa. Hanya beberapa radiasi yang diabsorpsi, tergantung pada panjang gelombang dari radiasi dalam struktur senyawa. Absorpsi radiasi disebabkan oleh pengurangan energi cahaya radiasi ketika electron dalam orbital dari rendah tereksitasi ke orbital energi tinggi (Haeria dan Andi, 2016:58-59).

*Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (Uv-Vis)* adalah salah satu teknis analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm), dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. *Spektrofotometri Uv-Vis* melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga *spektrofotometri Uv-Vis* lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Suhaling, 2010:35).

Prinsip kerja *spektrofotometri UV-Vis* didasarkan pada hukum *Lambert Beer*, Jika cahaya monokromatik melewati suatu media (larutan) maka cahaya tersebut sebagian akan diserap, sebagian dipancarkan dan sebagian lagi dipantulkan. Syarat-syarat pada hukum *Lambert-beer* adalah sampel homogen, tidak menyebabkan reaksi kimia, dan cahaya bersifat monokromatik (Ulfa, Primadiamanti, Novitasari, 2017:58). Keuntungan menggunakan *spektrofotometri* adalah teknik yang sederhana dengan tujuan menetapkan kuantitas zat yang bersifat mikro, hasil yang didapatkan akurat, angka yang didapat langsung terbaca oleh detektor dan dapat langsung tercetak berupa grafik yang sudah teregresikan (Utami, 2022:25).

## 2. Instrumentasi Spektrofotometer Uv-Vis

Bagian-bagian dari instrumentasi *spektrofotometri UV-Vis* yaitu :

### a. Monokromator

Sinar pada suatu gelombang tertentu bersifat monokromatik. Hal tersebut akan terjadi jika melewati sinar polikromatik yaitu sinar dengan beberapa panjang gelombang melalui monokromator. Monokromator terdiri dari celah masuk (*entrance slit*), filter, prisma dan kisi (*grating*), celah keluar (Gandjar dan Rohman, 2015:25).

#### 1) Celah (Slit)

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer. Celah monokromator berperan penting dalam hal terbentuknya radiasi monokromatis dan resolusi panjang gelombang.

#### 2) Filter Optik

Cahaya tampak yang merupakan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang 380-780 nm merupakan cahaya putih yang merupakan campuran cahaya dengan berbagai macam panjang gelombang. Filter optik berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan merupakan cahaya yang berwarna sesuai dengan warna filter optik yang dipakai.

Filter optik yang sederhana dan banyak dipakai terdiri dari kaca yang berwarna. Dengan adanya filter optik sebagai bagian monokromator akan dihasilkan pita cahaya yang sangat sempit sehingga kepekaan analisisnya lebih tinggi.

3) Prisma dan Kisi (Grating)

Prisma dan kisi merupakan bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

b. Kuvet

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang dianalisis. Kuvet ini bentuk biasanya terbuat dari quartz atau leburan silika dan ada yang dari gelas. Pada pengukuran di daerah ultra lembayung dipakai quartz atau leburan silika, sedang kuvet dari gelas tidak dipakai, karena gelas mengabsorpsi sinar ultra lembayung (Utami, 2022:25).

c. Detektor

Detektor berfungsi sebagai pengukur intensitas radiasi. Detektor biasanya berupa kepingan elektronik yang berguna sebagai pengubah intensitas berkas sinar kedalam sinyal elektrik serta sebagai pengganda yang menyebabkan kekuatan sinyal meningkat. Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer yang penting oleh sebab itu detektor akan menentukan kualitas dari spektrofotometer adalah merubah signal elektronik (Utami, 2022:26).

d. Sumber Radiasi

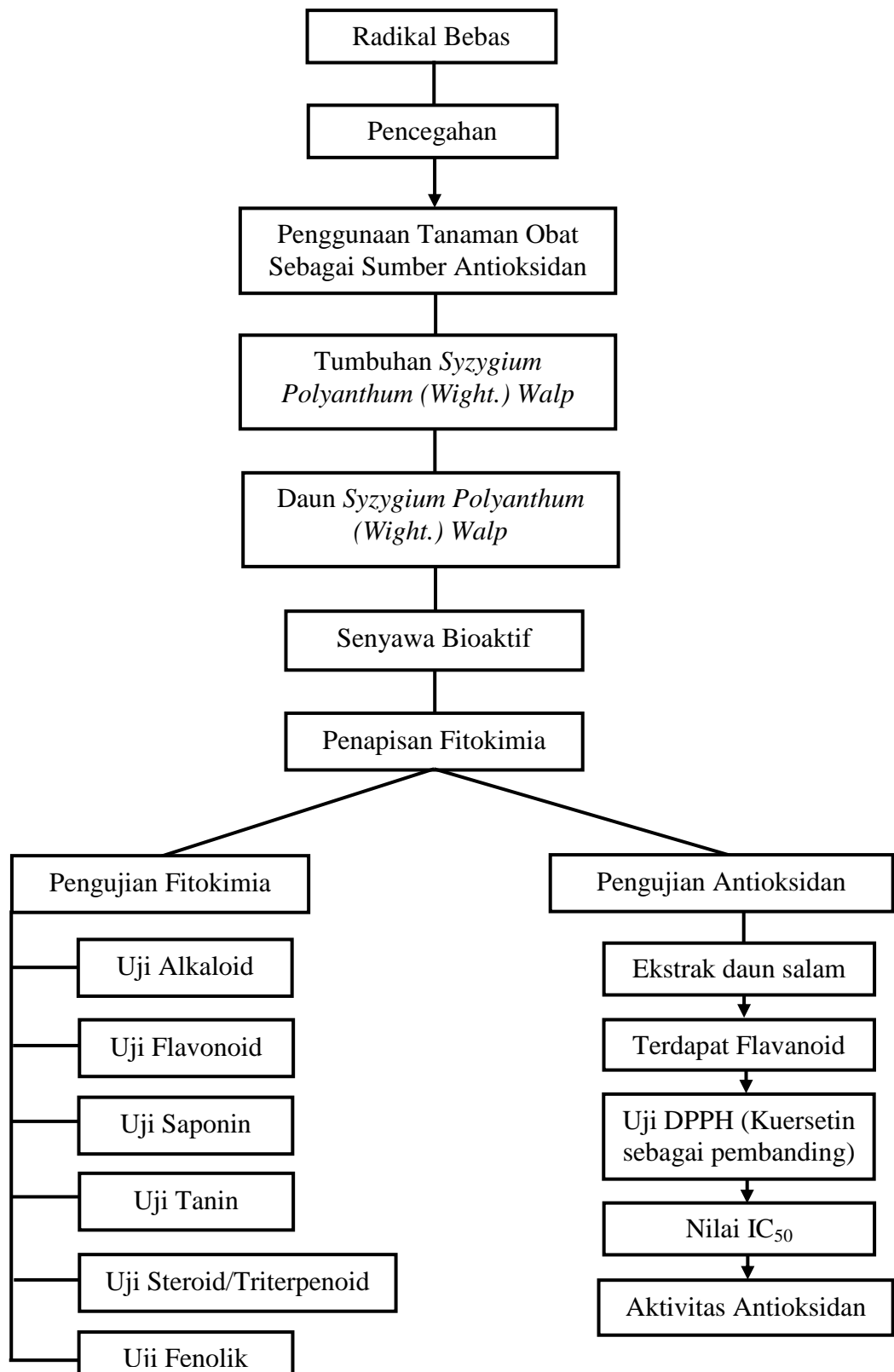
Menurut Gandjar dan Rohman (2015), syarat-syarat sumber sinar pada instrumen *spektrofotometer UV-Vis* yaitu harus mempunyai intensitas sinar stabil dan kuat, mampu melibatkan semua kisaran pengukuran pada daerah *UV-Vis*, tidak berfluktuasi dengan waktu singkat dan lama, dan intensitas sumber sinar tidak boleh beragam.

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu dengan *single beam* dan *double beam*. *Single beam* instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang

gelombang tunggal. *Single beam* instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada juga merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *single beam* instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. *Double beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double beam* instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Basuki, 2021:31).

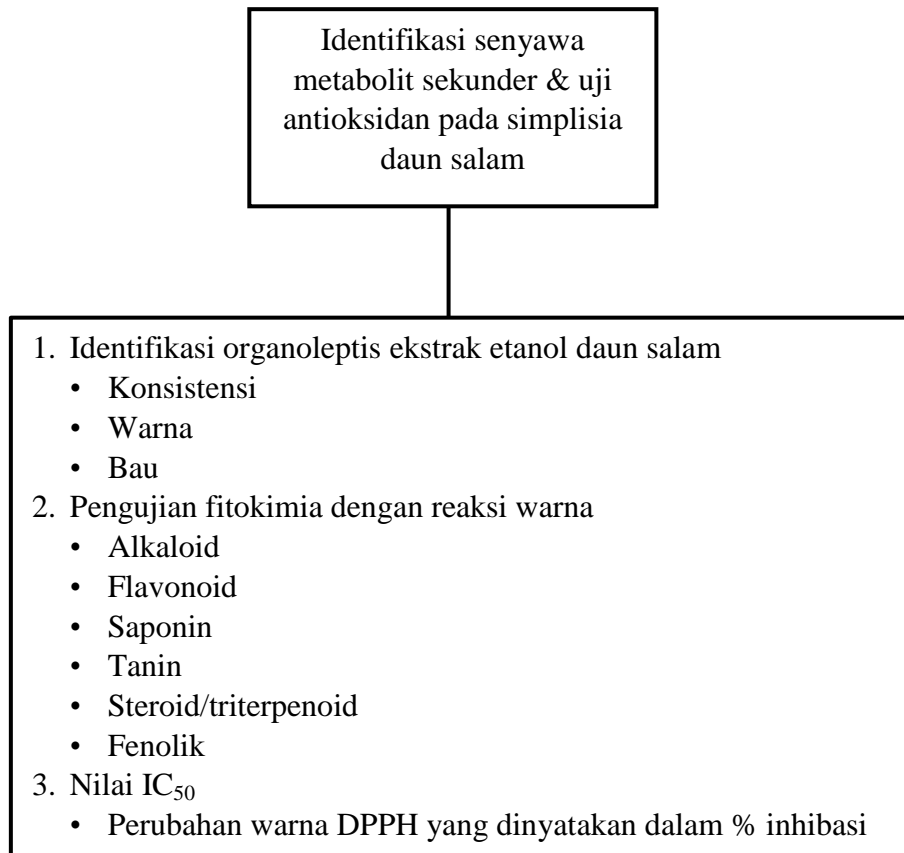


## F. Kerangka Teori



Gambar 2. 10 Kerangka Teori.

## G. Kerangka Konsep



Gambar 2. 11 Kerangka Konsep.

## H. Definisi Operasional

Tabel 2. 1 Definisi Operasional.

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Identifikasi Organoleptis Ekstrak Daun Salam	Konsistensi, warna dan bau ekstrak daun salam yang telah diupkan sehingga bobot konstan. (Latief, dkk 2021).	Observasi	Panca Indra	Konsistensi, warna dan juga bau.	Nominal
2.	Senyawa Alkaloid	Senyawa yang terbentuk endapan setelah direaksikan dengan pereaksi dragendorf, bouchardat, dan mayer. (Marjoni, 2016)	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk endapan pada sampel yang sudah direaksikan dengan reagen.  (-) apabila tidak terbentuk endapan pada ketiga sampel yang sudah direaksikan dengan ketiga reagen.	Nominal
3.	Senyawa Flavonoid	Senyawa apabila terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol pada uji flavonoid ini. (Marjoni, 2016)	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.  (-) apabila tidak terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.	Nominal

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
4.	Senyawa Saponin	Senyawa yang apabila terbentuk warna buih pada saat penambahan larutan HCL 2N. (Marjoni, 2016)	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk buih pada saat penambahan larutan HCL 2N (-) apabila tidak terbentuk buih pada saat penambahan larutan HCL 2N.	Nominal
5.	Senyawa Tanin	Senyawa apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan $FeCl_3$ . (Marjoni, 2016)	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi $FeCl_3$ .  (-) apabila tidak terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi $FeCl_3$ .	Nominal
6.	Senyawa Steroid/ Triterpenoid	Senyawa steroid yang apabila terbentuk warna biru hingga hijau yang menunjukkan positif atau senyawa triterpenoid terbentuk warna merah hingga ungu yang menunjukkan positif saat direaksikan dengan larutan	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk warna biru hingga hijau atau terbentuk warna merah hingga ungu.  (-) apabila tidak terbentuk warna biru hingga hijau atau tidak terbentuk warna merah hingga ungu.	Nominal

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
		pereaksi Lieberman Bouchardat. (Marjoni, 2016)				
7.	Senyawa Fenolik	Senyawwa yang apabila terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat saat penambahan $\text{FeCl}_3$ (Marjoni, 2016)	Observasi	Dengan mata atau visualisasi	(+) apabila terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat pada saat penambahan pereaksi $\text{FeCl}_3$ .  (-) apabila tidak terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat pada saat penambahan pereaksi $\text{FeCl}_3$ .	Nominal
8.	Nilai $\text{IC}_{50}$	Yaitu besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas. (Pindan; dkk, 2021)	Observasi dan dibaca serapanya dengan menggunakan alat <i>spektrofotometer Uv-Vis</i> .	Dengan mata atau visualisasi dan <i>spektrofotometer Uv-Vis</i> .	Semakin rendah nilai $\text{IC}_{50}$ yang menunjukkan % aktivitas antioksidannya dan semakin tinggi nilai $\text{IC}_{50}$ yang menunjukkan aktivitas antioksidanya rendah (Molyneux, 2004)	Rasio