

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI
(*Vitex cofassus*) DENGAN METODE ABTS dan DPPH**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETANOL EXTRACT OF BITTI
(*Vitex cofassus*) LEAVES BY ABTS AND DPPH METHODS**



OLEH:
NURUL MEIRAH

105131106721

SKRIPSI

Diajukan kepada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar untuk memenuhi sebagian persyaratan guna Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

2025

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PEMBIMBING
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI
(*Vitex cofassus*) DENGAN METODE ABTS dan DPPH**

NURUL MEIRAH

105131106721

Skripsi ini telah disetujui dan diperiksa oleh pembimbing skripsi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Makassar

Makassar, 07 Agustus 2025

Menyetujui Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

apt. Wira Yustika Rukman, S.Farm., M.Kes

Dr. apt. H. Muhammad Guntur, Dipl. Sc., M.Kes

PANITIA UJIAN SIDANG

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR

Skripsi dengan judul "UJI AKTIVITAS ANTILOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI (*Vitex cofassus*) DENGAN METODE ABTS DAN DPPH".

Telah diperiksa, disetujui, serta dipertahankan dihadapan Tim Penguji Skripsi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar pada:

Hari/Tanggal : Kamis, 07 Agustus 2025

Waktu : 11.00 WITA

Tempat : Ruang E Lantai 4 Prodi Farmasi

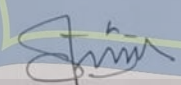
Ketua Tim Penguji:

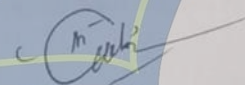

apt. Wira Yustika Rukman, S.Farm., M.Kes

Anggota Tim Penguji

Sekretaris Penguji

Anggota Penguji I


pt. H. Muhammad Guntur, Dipl. Sc., M.Kes


apt. Mutmainnah Thalib, S.Farm., M.Si

Anggota Penguji 2


apt. Nurfadilah, S.Farm., M.Si

PERNYATAAN PENGESAHAN

DATA MAHASISWA:

Nama Lengkap : Nurul Meirah
Nim: : 105131106721
Tahun Masuk : 2021
Peminatan : Farmasi
Nama Pembimbing Akademik : apt. Hj. Aminun Jariah, S.Farm., M.Kes
Nama Pembimbing Skripsi : apt. Wira Yustika Rukman, S.Farm., M.Kes
Judul Penelitian : Dr. apt. H. Muhammad Guntur, Dipl. Sc., M.Kes
: **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
ETANOL DAUN BITTL (*Vitex cofassus*)
DENGAN METODE ABTS dan DPPH**

Menyatakan bahwa yang bersangkutan telah melaksanakan tahap ujian usulan skripsi, penelitian skripsi, dan ujian skripsi, untuk memenuhi persyaratan akademik dan administrasi untuk mendapatkan Gelar Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar.

Makassar, 07 Agustus 2025

Mengesahkan

apt. Sulaiman, S.Si., M.Si

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi

PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Lengkap : Nurul Meirah
Tempat/ Tanggal Lahir : Sungguminasa, 27 Mei 2003
Tahun Masuk : 2021
Peminatan : Farmasi
Nama Pembimbing Akademik : apt. Hj. Ainun Jariah, S.Farm., M.Kes
Nama Pembimbing Skripsi : apt. Wira Yustika Rukman, S.Farm., M.Kes
Dr. apt. H. Muhammad Guntur, Dipl. Sc., M.Kes

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

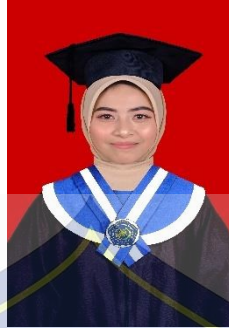
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI (*Vitex cofassus*) DENGAN METODE ABTS dan DPPH. Apabila saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat sebenar-benarnya.

Makassar, 07 Agustus 2025


Nurul Meirah

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Nama : Nurul Meirah
Ayah : Abd Halim
Ibu : Syahriah
Tempat Tanggal Lahir : Sungguminasa, 27 Mei 2003
Agama : Islam
Alamat : Limbung, Gowa
Nomor Telepon/Hp : 082349975823
Email : nurulmeirah0@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

TK AISIYAH BA LIMBUNG : (2008-2009)
MI MUHAMMADIYAH TAMACINNA : (2009-2015)
MTS MUHAMMADIYAH LIMBUNG : (2015-2018)
MA MUHAMMADIYAH LIMBUNG : (2018-2021)
Universitas Muhammadiyah Makassar : (2021-2025)

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

Skripsi, 2025

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI
(*Vitex cofassus*) DENGAN METODE ABTS dan DPPH**

ABSTRAK

Latar belakang: Perubahan iklim memiliki konsekuensi negatif yang luas, dimulai dengan penyebaran penyakit kulit yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa yang dapat menangkalkan radikal bebas adalah antioksidan. Senyawa kimia flavonoid merupakan salah satu pilihan alternatif alami untuk mencegah pembentukan dan pengurangan radikal bebas. Flavonoid dan tanin merupakan metabolit sekunder yang dapat meningkatkan potensi atau efektivitas suatu antioksidan. Flavonoid terdapat pada tanaman daun Bitti (*Vitex cofassus*) yang kemampuannya bertindak sebagai reduktor yang efektif dan menghambat reaksi oksidasi.

Tujuan penelitian: Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) dan metode DPPH.

Metode penelitian: Metode penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan uji kualitatif pengolahan sampel dan skrining fitokimia serta kuantitatif antioksidan dengan spektrofotometer UV Vis

Hasil Penelitian: Hasil skrining fitokimia diperoleh kandungan senyawa saponin, flavonoid dan tanin. Daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) diperoleh nilai IC_{50} sebesar 40,49 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai IC_{50} kuersetin sebesar 6,95 $\mu\text{g/ml}$. Ini menunjukkan ekstrak daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki antioksidan sangat kuat karena nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Sedangkan dengan metode DPPH diperoleh nilai IC_{50} sebesar 66,38 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai kuersetin sebesar 8,67 $\mu\text{g/ml}$. Ini menunjukkan bahwa ekstrak Daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki aktivitas antioksidan kuat karena nilai IC_{50} lebih dari 50 ppm.

Kata Kunci: Antioksidan, Daun Bitti (*Vitex cofassus*), skrining fitokimia, ABTS dan DPPH.

FACULTY OF MEDICINE AND HEALTH SCIENCES
MUHAMMADIDYAH UNIVERSITY OF MAKASSAR

Thesis, 2025

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETANOL EXTRACT OF BITTI
(*Vitex cofassus*) LEAVES BY ABTS AND DPPH METHODS

ABSTRACT

Backgrounds : Climate change has far-reaching negative consequences, starting with the spread of skin diseases caused by free radicals. Compounds that can counteract free radicals are antioxidants. Flavonoid chemical compounds are one of the natural alternative options to prevent the formation and reduction of free radicals. Flavonoids and tannins are secondary metabolites that can increase the potency or effectiveness of an antioxidant. Flavonoids found in Bitti (*Vitex cofassus*) leaf plants have the ability to act as effective reductants and inhibit oxidation reactions.

Obejective : To determine the antioxidant activity of ethanol extract of Bitti (*Vitex cofassus*) leaves based on IC₅₀ value with ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) method and DPPH (2,2-difenil 1-pikrilhidrazil) method.

Research Method : This research method is an experimental research with qualitative tests of sample processing and phytochemical screening and antioxidant quantitative with UV-Vis spectrophotometer.

Research Results : The results of phytochemical screening obtained the content of saponin compounds, flavonoids and tannins. Bitti leaf (*Vitex cofassus*) has antioxidant activity with ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) method obtained IC₅₀ value of 40.49 µg/ml and IC₅₀ value of quercetin of 6.95 µg/ml. This shows that Bitti (*Vitex cofassus*) leaf extract has a very strong antioxidant because the IC₅₀ value is less than 50 ppm. While with DPPH (2,2-difenil 1-pikrilhidrazil) method, the IC₅₀ value of 66.38 µg/ml and quercetin value of 8.67 µg/ml were obtained. This indicates that Bitti Leaf (*Vitex cofassus*) extract has strong antioxidant activity because the IC₅₀ value is more than 50 ppm.

Keywords : Antioxidant, Bitti leaf (*Vitex cofassus*), phytochemical screening, ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (2,2-difenil 1-pikrilhidrazil)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bitti (*Vitex cofassus*) Dengan Metode ABTS Dan DPPH” tepat pada waktunya. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk meraih gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar.

Kepada kedua orang tua tercinta mama Syahriah dan tetta Abd Halim terima kasih atas segala perjuangan, keikhlasan, ketulusan, doa dan dukungan serta motivasi yang selalu menyertai penulis sehingga penulis bisa sampai ke tahap ini sesuai dengan impianmu menjadikan saya sarjana yang bermanfaat. Kakak Febrianto, A.md Farm terima kasih telah berkontribusi dalam pendidikan penulis, memenuhi segala kebutuhan serta memberikan dukungan sehingga terselesaikannya skripsi ini. Dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Gagaring Pagalung, M.Si., Ak. C.A selaku ketua Badan Pembina Harian (BPH) Universitas Muhammadiyah Makassar
2. Bapak Dr. Ir. H. Abdul Rakhim Nanda, S.T., M.T., IPU selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar
3. Prof. Dr. dr. Suryani As'ad. M.Sc., Sp., GK selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar

4. Bapak apt. Sulaiman, S.Si., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar atas segala nasehat, dukungan dan motivasi selama proses perkuliahan
5. Bapak apt Wira Yustika Rukman, S.Farm., M.Kes selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Dr. apt. H. Muhammad Guntur, Dipl. Sc., M.Kes selaku dosen pembimbing kedua atas keikhlasan yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya serta dukungan dan motivasi dari awal pengajuan judul proposal hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Ibu apt Muthmainnah Thalib, S.Farm., M.Si selaku dosen penguji pertama dan ibu apt Nurfadilah, S.Farm., M.Si selaku dosen penguji kedua terima kasih atas segala saran yang telah diberikan selama penyusunan skripsi. Serta Bapak/Ibu dosen dan staff Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah memberikan ilmunya kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan berkah dan menjadi ilmu yang bermanfaat
7. Teman-teman Bidiprox yang telah kebersamai selama proses perkuliahan terkhusus sahabat Celebes (Khusnull, Vinda, Sindy, Ainun, Nabilah, Fitra, Aliyah, Ilal, Mutia, Wira, Cipa, Nupeb, Inda, Afnan, Wina, Imma, Nirwana, Hendry) yang telah memberikan dukungan, motivasi dan kerja sama Alhamdulillah terimakasih yang tak terhingga, atas izin Allah dipertemukan dengan teman yang sangat baik.

8. Amirahh sahabat sejak Mts yang selalu mengajak kepada kebaikan, selalu membantu penulis dalam hal apapun hingga terselesaikannya skripsi ini. Terimakasih pula kepada Vinda yang selalu membantu penulis dan memberikan dukungan semasa perkuliahan, praktikum sampai terselesaikannya skripsi. Alhamdulillah terimakasih yang tak terhingga, atas izin Allah dipertemukan dengan teman yang sangat baik.

9. Proud of myself Nurul Meirah yang telah berusaha semaksimal mungkin dalam menyelesaikan proses perkuliahan hingga saat ini

Semoga Allah Subhanahu wa ta'ala memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Hanya kepada Allah SWT penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca. Billahi fii sabililhaq fastabiqul khairat

Makassar, 07 Agustus 2025

Penulis

Nurul Meirah

105131106721

DAFTAR ISI

PERNYATAAN PERSETUJUAN PEMBIMBING ...	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP PENULIS	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACK.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian	5
E. Ayat yang Berhubungan dengan Penelitian	5
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Daun Bitti	7
B. Simplisia.....	9
C. Ekstraksi.....	12
D. Ekstrak.....	15
E. Skrining Fitokimia	15
F. Radikal Bebas.....	16
G. Antioksidan	18

H. Kuersetin	19
I. Metode Uji Aktivitas Antioksidan.....	20
J. Alat Spektrofotometer UV-Vis.....	23
K. Kerangka Konsep.....	28
BAB III.....	29
METODE KERJA	29
A. Jenis Penelitian.....	29
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
C. Alat dan Bahan.....	29
3. Tempat Pengambilan Sampel.....	30
4. Prosedur Kerja.....	30
BAB IV	37
HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil Pengamatan.....	37
B. Pembahasan.....	41
BAB V	45
PENUTUP	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi Aktivitas Antioksidan	19
Tabel 2.1	Absorpsi sinar UV pada λ maks beberapa pelarut.....	27
Tabel 4.1	Hasil Ekstraksi.....	37
Tabel 4.2	Hasil skrining fitokimia ekstrak daun Bitti (<i>Vitex cofassus</i>)	37
Tabel 4.3	Hasil pengukuran aktivitas antioksidan kontrol Kuersetin	38
Tabel 4.4	Hasil pengukuran aktivitas antioksidan Sampel.....	39
Tabel 4.5	Hasil pengukuran aktivitas antioksidan kontrol Kuersetin	40
Tabel 4.6	pengukuran aktivitas antioksidan Sampel	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun Bitti (<i>Vitex cofassus</i>).....	7
Gambar 2. 2 Spektrofotometri UV-Vis	24
Gambar 2. 3 Diagram alat spektrometer UV-Vis (single-beam).....	24
Gambar 2. 4 Skema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam).	25
Gambar 4.1 Kurva absorbansi kuersetin ABTS	39
Gambar 4.2 Kurva absorbansi sampel ABTS	39
Gambar 4.3 Kurva absorbansi kuersetin DPPH.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 4.4 Kurva absorbansi sampel DPPH	41
Gambar 5. Pengambilan Sampel	Error! Bookmark not defined.
Gambar 6. Pengambilan Sampel	Error! Bookmark not defined.
Gambar 7. Pencucian Sampel	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Pengeringan Sampel.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 9. Proses Maserasi Sampel.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Pemekatan Filtrat Dengan Rotary Evaporator	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. Hasil Ekstrak Kental Sampel.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 12. Hasil Uji Alkaloid Meyer	63
Gambar 13. Hasil Uji Alkaloid Wagner	63
Gambar 14. Hasil Uji Alkaloid Dragendroff.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 15. Hasil Uji Saponin	Error! Bookmark not defined.
Gambar 16. Hasil Uji Flavonoid	Error! Bookmark not defined.
Gambar 17. Hasil Uji Tanin	Error! Bookmark not defined.
Gambar 18. Hasil Uji Triterpenoid/steroid.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 19. Penimbangan Bahan Uji.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 20. Pembuatan Larutan Uji.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 21. Larutan Uji Pembanding	Error! Bookmark not defined.
Gambar 22. Larutan Uji ABTS sebelum diinkubasi ...	Error! Bookmark not defined.
Gambar 23. Larutan Uji ABTS setelah diinkubasi.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 24. Pengukuran Serapan Pada Spektrofotometer UV Vis ..	Error! Bookmark not defined.
Gambar 25. Penimbangan Bahan Uji.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 26. Pembuatan Larutan Uji.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 27. Larutan Uji Pembanding	Error! Bookmark not defined.
Gambar 28. Larutan Uji DPPH	Error! Bookmark not defined.
Gambar 29. Pengukuran Serapan Pada Spektrofotometer UV-Vis.	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja	50
Lampiran 2. Perhitungan.....	51
Lampiran 3. Pengolahan dan Proses Ekstraksi Sampel	61
Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia	63
Lampiran 5. Pengukuran Antioksidan dengan ABTS	65
Lampiran 6. Pengukuran Antioksidan dengan DPPH	67
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Antioksidan pembanding ABTS	69
Lampiran 8. Hasil Pengukuran Antioksidan Sampel ABTS	69
Lampiran 9. Hasil Pengukuran Antioksidan pembanding DPPH	70
Lampiran 10. Hasil Pengukuran Antioksidan Sampel DPPH	71
Lampiran 11. Surat Izin Penelitian.....	72
Lampiran 12. Surat Izin Penggunaan Laboratorium	73
Lampiran 13. Komite Etik Penelitian.....	74



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Secara global, perubahan iklim telah menjadi isu yang mendesak bagi manusia untuk ditangani yang mengarah pada tantangan signifikan dalam mempromosikan keberlanjutan lingkungan. Dalam konteks kesehatan manusia, dampaknya terkesan lebih nyata dan kompleks (Melo & Rahmadani, 2022). Indonesia sebagai negara kepulauan yang terletak di garis khatulistiwa rentan terhadap perubahan iklim. Perubahan iklim memiliki konsekuensi negatif yang luas, dimulai dengan penyebaran penyakit. Penyakit kulit merupakan salah satu penyakit yang banyak dijumpai di Indonesia. Penyebab penyakit kulit adalah paparan radikal bebas yang disebabkan oleh populasi udara dan paparan sinar matahari langsung (Anjarsari *et al.*, 2025).

Radikal bebas adalah suatu bentuk senyawa reaktif yang menyebabkan kerusakan pada kulit seperti kulit mudah kering dan pecah-pecah (Rosi, Afriani, & Elsa Putri, H, 2023). Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai atom, molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Kehadiran elektron yang tidak berpasangan dapat membuat senyawa atau molekul lebih reaktif dengan mengikat elektron dari molekul sekitarnya untuk mencari pasangan. Ketika elektron berikatan dengan senyawa radikal bebas ionik, efek samping yang terjadi lebih banyak kecil. Saat elektron dan radikal bebas berinteraksi, ikatan

kovalen dapat menimbulkan konsekuensi berbahaya (Blume *et al.*, 2024). Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif jika jumlahnya dalam tubuh berlebihan. Diabetes melitus, penyakit kardiovaskular, penyakit pernapasan, katarak, dan kanker serta penyakit kulit merupakan penyakit yang ditimbulkan akibat stres oksidatif yang terjadi akibat radikal bebas. Senyawa yang dapat menangkal radikal bebas adalah antioksidan (Lismawati, Tutik, & Nofita, 2021).

Antioksidan merupakan zat yang berperan dalam melindungi sel dan jaringan yang rusak akibat radikal bebas. Antioksidan ini bekerja dengan cara menghambat pembentukan dan aktivitas spesies oksigen reaktif yang dapat merusak berbagai komponen tubuh seperti DNA, lemak, karbohidrat, dan protein (Blume *et al.*, 2024). Senyawa kimia flavonoid merupakan salah satu pilihan alternatif untuk mencegah pembentukan dan pengurangan radikal bebas serta kegagalan jaringan (Husna, Kairupan, & Lintong, 2022).

Dibandingkan dengan vitamin C dan E, flavonoid memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi. Flavonoid dan tanin merupakan metabolit sekunder yang dapat meningkatkan potensi atau efektivitas suatu antioksidan. Kemampuan flavonoid untuk menghilangkan elektron dari bebas radikal menyebabkan transformasinya menjadi non radikal (Wibawa, 2021). Flavonoid memiliki efek yang beragam dan kuat pada organisme yang berbeda, itulah sebabnya digunakan dalam pengobatan tradisional karena kemampuannya untuk bertindak sebagai reduktor yang efektif dan menghambat reaksi oksidasi, baik itu enzim atau tidak.

Kerusakan akibat radikal bebas dapat dilindungi oleh flavonoid, yang penting untuk mempertahankan tubuh (Baturante, Khadijah, & Tahar, 2024).

Senyawa flavonoid terdapat dalam beberapa tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan eksogen bagi tubuh. Akar, kulit batang, dan daun Bitti (*Vitex cofassus*) salah satu tanaman yang memiliki senyawa flavonoid (Baturante, Khadijah, & Tahar, 2024).

Merujuk pada penelitian terdahulu oleh (Baturante, Khadijah, & Tahar, 2024) dilakukan penentuan total flavonoid daun Bitti (*Vitex cofassus*) antara daun muda dan daun tua dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-VIS. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa daun tua lebih banyak mengandung flavonoid (Baturante, Khadijah, & Tahar, 2024). Sedangkan penelitian oleh (Suhaenah *et al.*, 2024) dilakukan uji aktivitas antioksidan pada daun Bitti (*Vitex cofassus*) dengan metode DPPH. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki potensi kuat sebagai antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} terhadap DPPH sebesar 56,59 $\mu\text{g/mL}$. Kuersetin sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} 5,93 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Tanaman Bitti (*Vitex cofassus*) tergolong dalam kategori tanaman endemik Sulawesi Selatan. Telah tersebar genus vitex berbagai daerah yang digunakan sebagai pengobatan gangguan hormonal, sakit kepala, diare dan penyakit lainnya. Meskipun ada lebih dari 250 spesies Vitex, hanya 24 yang telah dianalisis untuk komposisi botani. Berdasarkan studi bibliografi yang dilakukan hingga tahun

2013. Terpen, flavonoid dan lignan merupakan unsur utama yang diisolasi dari spesies Vitex. Daun Bitti (*Vitex cofassus*) telah ditemukan memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk sifat hepatoprotektif, antitumor, antibiotik, dan antibakteri (Blume *et al.*, 2024). Daun Bitti (*Vitex cofassus*) mirip dengan kayu jati, kayu ini tahan lama, fleksibel, dan tahan rayap. Pohon Bitti di Maluku Utara dimanfaatkan baik sebagai bahan bangunan maupun sebagai tanaman obat tradisional (Baturante, Khadijah, & Tahar, 2024).

Berdasarkan hasil penelusuran literatur, belum terdapat penelitian uji aktivitas antioksidan daun Bitti (*Vitex cofassus*) dengan metode ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) dan metode DPPH (2,2-difenil 1-pikrilhidrazil) secara spektrofotometer UV-Vis.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan Uraian latar belakang diatas maka yang menjadi masalah penelitian adalah :

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode ABTS?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode DPPH?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode ABTS

2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) berdasarkan nilai IC_{50} dengan metode DPPH

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini memberikan pengetahuan mendalam kepada peneliti mengenai tanaman endemik Bitti (*Vitex cofassus*) dengan pengujian antioksidan

2. Bagi Institusi

Memberikan sumber data kepada civitas akademik mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman endemik Bitti (*Vitex cofassus*) dengan pengujian antioksidan

3. Bagi Masyarakat

Sebagai pemanfaatan pengobatan masyarakat mengenai tanaman endemik daun Bitti (*Vitex cofassus*)

E. Ayat yang Berhubungan dengan Penelitian

Allah SWT telah menumbuhkan berbagai ragam tumbuhan di sekitar kita sebagai kebutuhan makhluk hidup. Sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surah Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً ۖ فَأَخْرَجْنَا بِهِ ثَبَاتًا كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ
حَبًّا مُتَرَاكِبًا

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau”.

Ayat ini menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan tanaman dengan air untuk memenuhi kebutuhan manusia. Sebagai khalifah di bumi diperintahkan untuk memelihara, merawat serta memanfaatkan tanaman tersebut. Itulah sebabnya peneliti memanfaatkan tanaman sebagai sumber alami yang mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun Bitti



Gambar 2. 1 Daun Bitti (*Vitex cofassus*)
(Dokumentasi Pribadi, 2025)

1. Klasifikasi

Regnum : Plantae

Devisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Lamiales

Famili : Verbenaceae

Genus : Vitex

Spesies : *Vitex cofassus* (Kurnia dan Jumadi, 2019)

2. Penyebaran

Bitti dapat ditemukan di Malaysia, Filipina dan Indonesia. Spesies ini banyak ditemukan di Sulawesi terutama di pulau-pulau Selatan hingga bagian timur Maluku dan juga ditemukan di Pulau Buru. Di Sulawesi Selatan, spesies ini ditemukan di Kabupaten Enrekang, Luwu, Jeneponto, Bantaeng, Mamuju, Bulukumba dan Takalar. Spesies Bitti dapat tumbuh di tanah kering dan berbatu kualitas tanah lempung pada batu pasir serta dapat tumbuh pada ketinggian antara 0 hingga 1500 m di atas permukaan laut (Darmojo, 2013).

3. Nama lain

Nama lain dari daun Bitti adalah Katondeng (Makasar), biti, katonde (Bugis), beso (Halmahera selatan), gofasa (Maluku Utara), gawasa (Halmahera utara), Biti (Sulawesi), Sassuwar (Irian Jaya) (Kurnia dan Jumadi, 2019)

4. Morfologi

Pohon Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki diameter 80 cm dengan tinggi mencapai 45 meter. Terdapat banyak pula percabangannya. Musim berbunga dan berbuah pohon Bitti berbeda berdasarkan tempat tumbuhnya. Buah yang sudah masak berwarna coklat tua sampai hitam, jenis ini berbuah pada umur lima tahun. Kayu gubalnya berwarna putih dan kayu teras berwarna kuning muda, keras dan padat. Pohon Bitti ini mempunyai akar yang dalam dan akar superfisial memanjang selebar 30 cm. Pada tanaman dewasa tunggal terdapat

berbagai percabangan yang menyebabkan persaingan kuat antar akar (Darmojo, 2013).

5. Kandungan senyawa kimia

Beberapa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan seperti Bitti (*Vitex cofassus*) yang memiliki sifat antioksidan seperti alkaloid, flavonoid dan fenol serta terpenoid (Baturante, Khadijah, dan Tahar, 2024). Tanaman Bitti (*Vitex cofassus*) telah diidentifikasi mengandung senyawa steroid (Khadijah *et al.*, 2024).

B. Simplisia

Istilah "simplisia" digunakan untuk menggambarkan bahan obat alami yang belum diolah yang digolongkan sebagai bahan kering, kecuali dinyatakan lain (Depkes RI, 1989).

Menurut (Haerani *et al.*, 2023) simplisia dapat diklasifikasikan menjadi tiga bagian yakni:

1. Simplisia nabati merupakan bahan alami yang diambil dari tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, infus tumbuhan, atau kombinasi ketiganya. Eksudat adalah isi seluler yang diperoleh secara alami dari tumbuhan atau secara khusus dikeluarkan dari sel melalui rangsangan. Eksudat tumbuhan dapat berupa zat atau bahan tumbuhan lain yang telah dipisahkan atau diisolasi dengan cara tertentu.

2. Bahan alami yang terbuat dari bahan kimia yang tidak dimurnikan, seperti hewan utuh atau bagian tubuh hewan, dikenal sebagai Simplisia hewani.
3. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

Menurut (Depkes RI, 1985) ada beberapa langkah dalam pembuatan simplisia yaitu:

1. Pengumpulan Bahan Baku

Penentuan bagian tanaman dan waktu panen yang tepat memerlukan penelitian. Penting untuk mempertimbangkan stabilitas kimia dan fisik senyawa aktif sederhana terhadap panas matahari saat menentukan waktu panen harian.

2. Sortasi Basah

Sortasi basah digunakan untuk menghilangkan kontaminan dan komponen lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Tanah mengandung banyak mikroba, dengan sortasi basah dapat meminimalkan jumlah mikroba .

3. Pencucian

Kotoran dan zat-zat lain yang menempel pada bahan simplisia dihilangkan melalui pencucian. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Zat-zat yang mudah larut dalam air mengalir dapat memungkinkan pencucian cepat.

4. Perajangan

Bahan simplisia dirajang untuk memudahkan proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau mesin perajang khusus untuk menghasilkan irisan tipis sesuai ukuran yang dibutuhkan.

5. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk menghilangkan simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu lama. Secara alamiah ataupun buatan dapat dilakukan pengeringan. Suhu pengeringan simplisia yang optimal tidak melebihi 60°C.

6. Sortasi Kering

Pemisahan bahan-bahan asing seperti potongan tumbuhan yang tidak diinginkan dan kontaminan lain yang tertinggal pada simplisia kering merupakan tujuan dari sortasi kering.

7. Pengepakan dan Penyimpanan

Kualitas simplisia dapat diubah oleh sejumlah faktor internal dan eksternal, seperti cahaya, oksigen, reaksi kimia, penyerapan air, dan serangga. simplisia dapat disimpan dalam wadah yang sesuai untuk mencegah kerusakan dan berbagai jenis serangga. Agar simplisia dapat dikemas tanpa menimbulkan reaksi atau perubahan warna, bau, atau rasa, maka simplisia harus berada dalam wadah yang tidak beracun dan bersifat inert terhadap isinya. Pada suhu kamar, Simplisia harus disimpan antara 15°C dan 30°C.

8. Pemeriksaan Mutu

Apabila simplisia diterima dari pedagang atau pengepul simplisia dilakukan pemeriksaan mutu. Apabila simplisia memenuhi standar yang tertuang dalam Materia Medika Indonesia edisi terbaru, buku Farmakope Indonesia, maka simplisia tersebut dianggap bermutu tinggi.

C. Ekstraksi

Ekstraksi adalah tindakan mengekstraksi, menghilangkan atau menghapus dari komponen campuran. Umumnya direkomendasikan untuk menggunakan pelarut yang sesuai untuk komponen yang dimaksud. Cairan dipisahkan dan kemudian diuapkan sampai konsentrasi tertentu. Ekstraksi melibatkan pemisahan zat terlarut menjadi dua pelarut yang tidak reaktif untuk menyerap bahan zat terlarut dari satu pelarut ke pelarut lainnya. Berikut beberapa metode ekstraksi (Haryanto *et al.*, 2024).

1. Metode Maserasi

Salah satu metode filtrasi adalah maserasi. Hal ini dilakukan hanya dengan merendam bubuk simplisia dalam cairan filter selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Modifikasi yang dapat dilakukan pada metode maserasi adalah sebagai berikut: modifikasi pada maserasi sirkular, maserasi digesti, maserasi sirkular multilapis, remaserasi, dan modifikasi mesin pengaduk.

2. Metode Perkolasi

Salah satu teknik penyaringan adalah perkolasi, yaitu melewati filter melalui bubuk simplisia yang dihasilkan. Prinsip perkolasi adalah ekstraksi senyawa aktif, yang dilakukan dengan cara maserasi bubuk simplisia selama tiga jam. Simplisia kemudian ditempatkan di dalam bejana berbentuk silinder dengan sekat bagian bawah berpori, dan cairan penyaring melewatinya dari atas ke bawah. Cairan penyaring melarutkan senyawa aktif dalam sel simplisia saat melewatinya hingga jenuh.

3. Metode Sokletasi

Proses yang dikenal sebagai soxhletation melibatkan penghilangan komponen kimia menggunakan bubuk simplisia, yang diaplikasikan pada lapisan yang dilapisi kertas saring. Cairan penyaring kemudian dipanaskan dalam labu yang alasnya berbentuk lingkaran sehingga menguap dan mengembun menjadi molekul cairan penyaring yang jatuh ke dalam wadah. Jika tidak terdapat noda pada KLT, cairan pada siphon tidak berwarna, atau peredarannya mencapai 20–25 kali, maka ekstraksi dianggap sempurna.

4. Metode Refluks

Prinsip refluks adalah untuk menghilangkan komponen kimia dengan menambahkan sampel dan cairan ke dalam labu alas bulat. Setelah filter dipanaskan, uap cairan filter mengembun dalam kondensor berbentuk bola untuk membentuk molekul cairan filter, yang kembali ke udara dalam labu alas bulat dan disaring ulang. Sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat,

dan seterusnya, sampai penyaringan sempurna, pelarut diganti tiga kali setiap tiga sampai empat jam, muncul noda pada KLT, atau sirkulasi mencapai 20 sampai 25 kali.

5. Metode Destilasi Uap

Distilasi uap menggunakan peristiwa tekanan parsial untuk menghilangkan bahan kimia yang mudah menguap dari bahan yang mengandung uap air. Distilasi uap air bekerja berdasarkan konsep dasar distilasi minyak, di mana air dimasukkan ke dalam berbagai labu dan pelarut diubah tiga kali setiap tiga hingga empat jam. KLT menunjukkan noda, atau sirkulasi meningkat 20–25 kali lipat.

6. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dari ekstraksi bahan tanaman dengan pelarut berair pada suhu 90°C selama 15 menit. Jaringan lunak, seperti bunga dan daun umumnya digunakan untuk membuat obat herbal menjadi infusa dan minyak atsiri serta zat lain yang tidak tahan terhadap pemanasan berkepanjangan.

7. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan cara menghilangkan senyawa dengan cara menyiapkannya dalam air dengan suhu 90-95°C dalam waktu 30 menit. Dalam waktu lama sediaan dapat disimpan untuk digunakan Kembali tanpa adanya kontaminasi.

8. Lawan Arah (*counter current*)

Mirip dengan metode perkolasi, metode ekstraksi ini menggerakkan simplisia ke arah yang berlawanan dengan arah pelarut. Metode ini menggunakan alat yang besar

9. Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik menggunakan frekuensi 20-2000 KHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan kandungan sel meningkat keluar. Frekuensi getaran mempengaruhi hasil ekstraksi. Gelombang ultrasonik bertanggung jawab atas proses ekstraksi yang lebih cepat daripada metode konvensional. Gelombang elektron menghasilkan getaran dalam media transmisi. Proses ekstraksi akan terganggu oleh getaran yang dihasilkan oleh gelombang ultrasonik (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

D. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia, menggunakan pelarut yang lebih cocok, menguapkan semua atau hampir semua pelarut dan memproses sisa massa atau bubuk untuk memenuhi standar yang ditentukan (Depkes RI, 2020).

E. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode yang digunakan untuk mempelajari komponen aktif yang ditemukan dalam sampel seperti struktur, biosintesis, dan fungsi biologisnya serta isolasi dan komposisi berbagai jenis sel. letak geografis,

suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan dari sampel tersebut (Muthmainnah, 2019).

F. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah struktur molekul dengan satu elektron di luar atom, membuatnya sangat reaktif dan membutuhkan elektron dari molekul lain. Radikal bebas sangat mampu menyebabkan kerusakan pada sel-sel tubuh, terutama pada bagian DNA dan protein. Kerusakan ini dapat menyebabkan mutase genetik yang dapat meningkatkan risiko terjadinya penyakit seperti kanker, penyakit jantung, dan penyakit degeneratif lainnya. Sumber radikal bebas dapat berasal dari sumber eksternal dan internal tubuh kita. Sumber eksternal seperti paparan sinar matahari, polusi udara, tembakau, obat-obatan, polutan, pestisida, makanan tidak sehat dan zat berbahaya lainnya baik yang berasal dari atau tidak karena radiasi. Radikal bebas yang diproduksi oleh tubuh adalah senyawa yang sebenarnya muncul dari proses biologis atau fisiologis normal (Nurkhasanah *et al.*, 2023).

Secara umum, dampak radikal bebas lebih besar daripada dampak oksidan. Molekul seluler dan ekstraseluler seperti protein, asam lemak tidak jenuh, glikoprotein dan zat lain dari komponen DNA seperti karbohidrat dan basa purin dapat rusak oleh radikal bebas dalam tubuh manusia. Radikal bebas dalam konsentrasi tinggi menyebabkan kematian sel, gangguan dan kerusakan pada sistem enzim DNA dan RNA sehingga terjadi mutasi genetik (Kesuma, 2015).

Menurut (Irianti *et al.*, 2017) reaksi pembentukan radikal bebas diklasifikasikan menjadi:

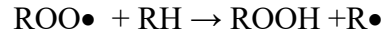
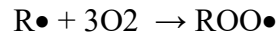
1. Tahap Inisiasi

Suhu tinggi, proses ekstrusi dan tekanan dalam pemotongan polimer menghasilkan radikal alkali. Ketika oksida telah di mulai, konsentrasi hidroperoksida meningkat. Dekomposisi hidroperoksida pada sumber primer inisiator radikal. Pembentukan radikal disebabkan oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil, yang dihasilkan melalui penyerapan sinar UV. Degradasi polimer disebabkan oleh penyerapan sinar UV terhadap autoksidasi radikal.



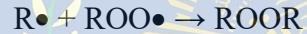
2. Tahap Propagasi

Pada fase propagasi, oksigenasi lipid ($R\bullet$) dapat terjadi. Radikal yang dilepaskan sebagai peroksida (ROO) ini terbentuk. Proses oksigenasi terjadi sangat cepat dengan aktivitas energik hampir mendekati nol. Situasinya menghasilkan pembentukan konsentrasi ROO yang lebih tinggi. Kecepatan reaksi molekul oksigen terbentuk dengan radikal alkil. Radikal peroksi jauh lebih tinggi dari normal reaksi radikal peroksida dengan atom hidrogen substrat.



3. Tahap Terminasi

Signifikan reaksi terminasi pada konsentrasi oksigen yang rendah. Kombinasi radikal tinggi menyebabkan ikatan silang, yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan ukuran molekul. Spesies non radikal diproduksi selama fase terminasi dikarenakan radikal bebas dapat bereaksi antar satu dan lainnya. Sementara hidropersoksida terurai dalam produk alkohol, asam keton dan substrat lainnya konstan



G. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa dengan struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya secara bebas menjadi molekul radikal bebas, sehingga memutus reaksi berantai radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa yang mencegah atau inhibitor yang menetralkan reaksi antara radikal bebas dan target molekul. Antioksidan memainkan peran yang sangat penting dalam mencegah stres oksidatif yang mungkin dialami tubuh. Senyawa antioksidan dapat mendonorkan elektron sehingga mengurangi tingkat atau jumlah radikal bebas dan mengurangi efek stres oksidatifnya yang disebabkan oleh radikal bebas

(Nurkhasanah *et al.*, 2023). Menurut ((Kholifah, Nurazizah & Noviyanto 2023) aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC_{50}

Tabel 2.1 Klasifikasi Aktivitas Antioksidan

Nilai IC_{50}	Karakteristik Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
101-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat lemah

H. Kuersetin

Kuersetin adalah salah satu flavonoid di mana merupakan metabolit sekunder esensial yang disintesis di hampir semua bagian tanaman dibawah keadaan lingkungan tanaman yang berbeda. Pada penentuan kadar kuersetin, beberapa faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya kadar kuersetin yaitu ketersediaan nutrisi dan air serta salinitas pada tanaman. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari Low density Lipoprotein (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat logam transisi. Ketika kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal, tapi elektron tidak berpasangan yang dihasilkan. Antioksidan Tersier berfungsi dalam memperbaiki biomolekul yang

didelokasasi oleh resonansi, hal ini membuat senyawa kuersetin radikal memiliki energi yang sangat rendah untuk menjadi radikal yang reaktif (Melanie,2022)

I. Metode Uji Aktivitas Antioksidan

1. Metode FRAP

FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode analisis untuk mengurangi kadar antioksidan pada proses reduksi Fe (III)-TPTZ menjadi Fe (II) -TPTZ, sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi biru. TPTZ sendiri merupakan pewarna dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kekuatan antioksidan di uji dengan FRAP, tidak diperlukan mencakup pemrosesan, karena dianggap konstan dan linier dengan hasil pengujian. Selama tes FRAP, sampel ideal digunakan $>3000 \mu\text{M}$ dilarutkan dalam air atau etanol, dan pengujian berulang dilakukan dengan pengenceran bertahap untuk nilai pengukuran FRAP. Proses pengujian dilakukan pada pH asam dengan pengukuran penyerapan pada panjang gelombang 593 nm menggunakan spektrofotometer. Keuntungan menggunakan FRAP adalah cepat, cocok untuk sampel plasma (baik sebagai jenis antioksidan tunggal atau bila dicampur dengan plasma), sederhana dan reagensinya mudah di dapat (Mu'nisa, 2023). Pengukuran utama, teknik ini dianggap mengukur aktivitas antioksidan total dari komponen biologis. Teknik ini juga menawarkan ukuran kapasitas untuk mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Hasil

tes FRAP adalah reaksi kinetik hubungan dengan dosis larutan yang diuji dan aktivitas antioksidan yang sebanding dengan plasma tubuh (Probo, 2019).

2. Metode ABTS

ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) adalah senyawa organik radikal kationik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada Ph 7,4. Pengukuran ABTS dilakukan untuk mengukur kapasitas antioksidan dalam menyumbangkan radikal proton untuk mendapatkan stabilitas. Ketika diolah dengan natrium / kalium persulfat, menghasilkan kation radikal hijau kebiruan ($ABTS^+$). Bereaksi 2,45 mM kalium persulfat dengan stok ABTS 7 mM menghasilkan kation radikal, yang kemudian didiamkan dalam wadah gelap selama 12-16 jam sebelum digunakan. Antioksidan yang menyumbangkan hidrogen, seperti zat lipofilik dan hidrofilik serta ekstrak makanan seperti flavonoid, hidroksisinamat, dan karotenoid, menurunkan kation radikal. ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diperlukan untuk metode pemulungan uji radikal ABTS. Ketika diolah dengan natrium/potasium persulfat, akan menghasilkan kation radikal berwarna hijau kebiruan ($ABTS^+$). Kation radikal berwarna biru $ABTS^+$ menyerap cahaya dengan panjang gelombang 734 nm. Kation radikal ABTS bereaksi dengan sebagian besar antioksidan, seperti tiol dan fenolat. Reaksi ini mengubah kation radikal ABTS yang berwarna biru menjadi bentuk netral

yang tidak berwarna. Setelah satu elektron teroksidasi, substrat prooksidase ABTS menghasilkan radikal yang cukup stabil dan telah mendapatkan popularitas sebagai pengurang untuk menghitung kapasitas antioksidan total. (Nurkhasanah, 2021). Keunggulan penggunaan metode ABTS dianggap sebagai metode sederhana dan cepat, dapat digunakan baik dalam fase air ataupun lipid (Mu'nisa 2023). ABTS sebagai uji aktivitas antioksidan menawarkan penyerapan khusus pada panjang gelombang yang dapat dideteksi dan waktu respon cepat (Famila, 2023). Kemampuan antioksidan untuk menyumbangkan radikal proton untuk mencapai kestabilan diukur dengan menggunakan metode ABTS. Kapasitas antioksidan pada 734 nm ditentukan secara kuantitatif dengan menggunakan kalorimeter. Metode ABTS juga dikenal sebagai TEAC, dianggap sebagai teknik yang sederhana dan cepat yang bekerja dalam fase lipid dan air (Probo, 2019).

3. Metode DPPH

DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) adalah radikal bebas yang stabil. Pada pengujian ini, DPPH akan berwarna ungu karena mengalami delokalisasi, kemudian akan berubah warna menjadi kuning hidrazin ketika bereaksi dengan antioksidan dan sedang menjalani proses reduksi. Proses reduksi terjadi karena adanya donor hidrogen dari substrat menyebabkan warna ungu DPPH berkurang. Dalam proses evaluasi antioksidan menggunakan uji DPPH, terdapat proses seleksi yang bertujuan untuk uji

kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 515 nm dan larut dalam pelarut organik seperti methanol dan etil asetat juga digunakan untuk menguji antioksidan polar (Mu'nisa, 2023). Parameter IC_{50} (berasal dari konsentrasi penghambatan IC_{50} atau dapat dinyatakan sebagai konsentrasi efisiensi EC_{50}) menunjukkan konsentrasi aktivitas antioksidan yang digunakan untuk mengurangi konsentrasi DPPH 50%. Aktivitas antioksidan, yang kemudian ditentukan dengan menggunakan fase-fase kurva penghambatan, dinyatakan semakin besar semakin rendah nilainya. Molekul DPPH adalah radikal nitrogen stabil yang sama sekali berbeda dengan senyawa radikal peroksil yang tidak stabil dan reaktif tidak menentu. Reaktivitas yang berbeda terhadap antioksidan disebabkan oleh sifat DPPH dan radikal peroksil yang berbeda. Metode DPPH dengan menggunakan larutan organik, memungkinkan sulit untuk menganalisis zat hidrofilik. Dengan demikian, kesederhanaan dan kemudahan penggunaan metode DPPH menjadi keunggulan utamanya (Probo, 2019).

J. Alat Spektrofotometer UV-Vis

Teknik analisis yang dikenal sebagai metode spektrofotometri UV-Vis memanfaatkan zona serapan sinar tampak dan UV untuk mengidentifikasi senyawa. Secara umum senyawa yang dapat diidentifikasi dengan

spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang mempunyai gugus kromoforik dan gugus auksokromik (Handoyo Sahumena *et al.*, 2020).



Gambar 2. 2 Spektrofotometer UV-Vis

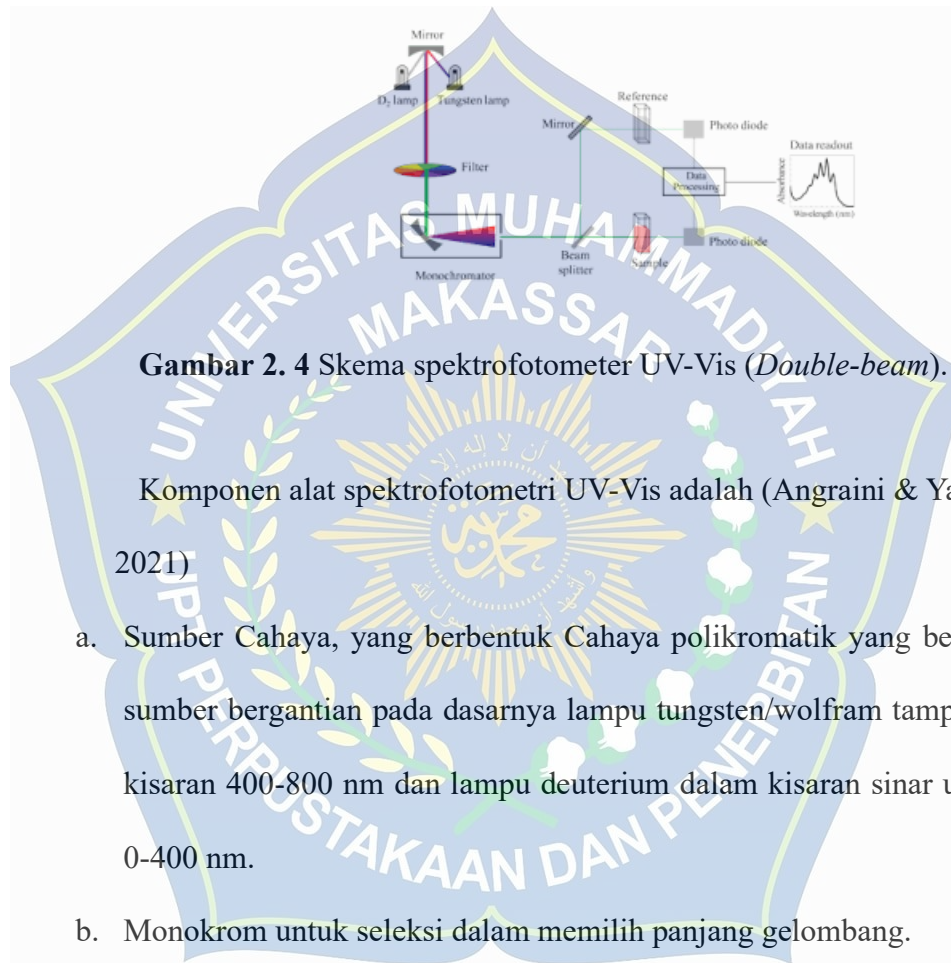
Ada dua tipe alat spektrofotometer UV-Vis yaitu (Suhartati Tati, 2017)

- a. Single beam dapat digunakan secara kuantitatif untuk mengukur penyerapan pada panjang gelombang tunggal. Instrument single beam mempunyai kelebihan yakni keserhanaan dan biaya yang ekonomis. Single beam ini dapat mengukur radiasi sinar tampak dan ultraviolet dengan satu berkas sinar. Dalam kisaran 800 nm hingga 1000 nm, merupakan gelombang terpanjang sedangkan gelombang minimum kisaran antara 190 nm hingga 210 nm.



Gambar 2. 3 Diagram alat spektrometer UV-Vis (*single-beam*)

- a. Double beam memiliki dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin berbentuk V disebut pemecah sinar. Lensa pertama adalah lensa blanko sedangkan lensa kedua adalah lensa ganda yang dirancang digunakan untuk Panjang gelombang berkisar antara 190 nm hingga 750 nm.



- Sumber Cahaya, yang berbentuk Cahaya polikromatik yang berasal dari sumber bergantian pada dasarnya lampu tungsten/wolfram tampak dalam kisaran 400-800 nm dan lampu deuterium dalam kisaran sinar ultraviolet 0-400 nm.
- Monokrom untuk seleksi dalam memilih panjang gelombang.
- Kuvet digunakan sebagai penyimpanan sampel. Berbentuk persegi panjang, lebar 1 cm dengan permukaan optik lurus dan paralel, transparan, tidak bereaksi terhadap bahan kimia, dan memiliki bentuk yang sederhana.

- d. Detektor penangkap Cahaya untuk menangkap berkas Cahaya yang melintasi sampel
- e. Read out merupakan system yang menangkap informasi listrik dari detektor dan mengubahnya menjadi transmittan atau penyerapan pada tampilan.

Spektrofotometer UV-Vis dapat mendeteksi gas, cairan dan padatan. Umumnya, sampel harus berubah menjadi larutan jernih. Ada beberapa factor yang perlu dipertimbangkan saat memilih sampel untuk pengujian yaitu:

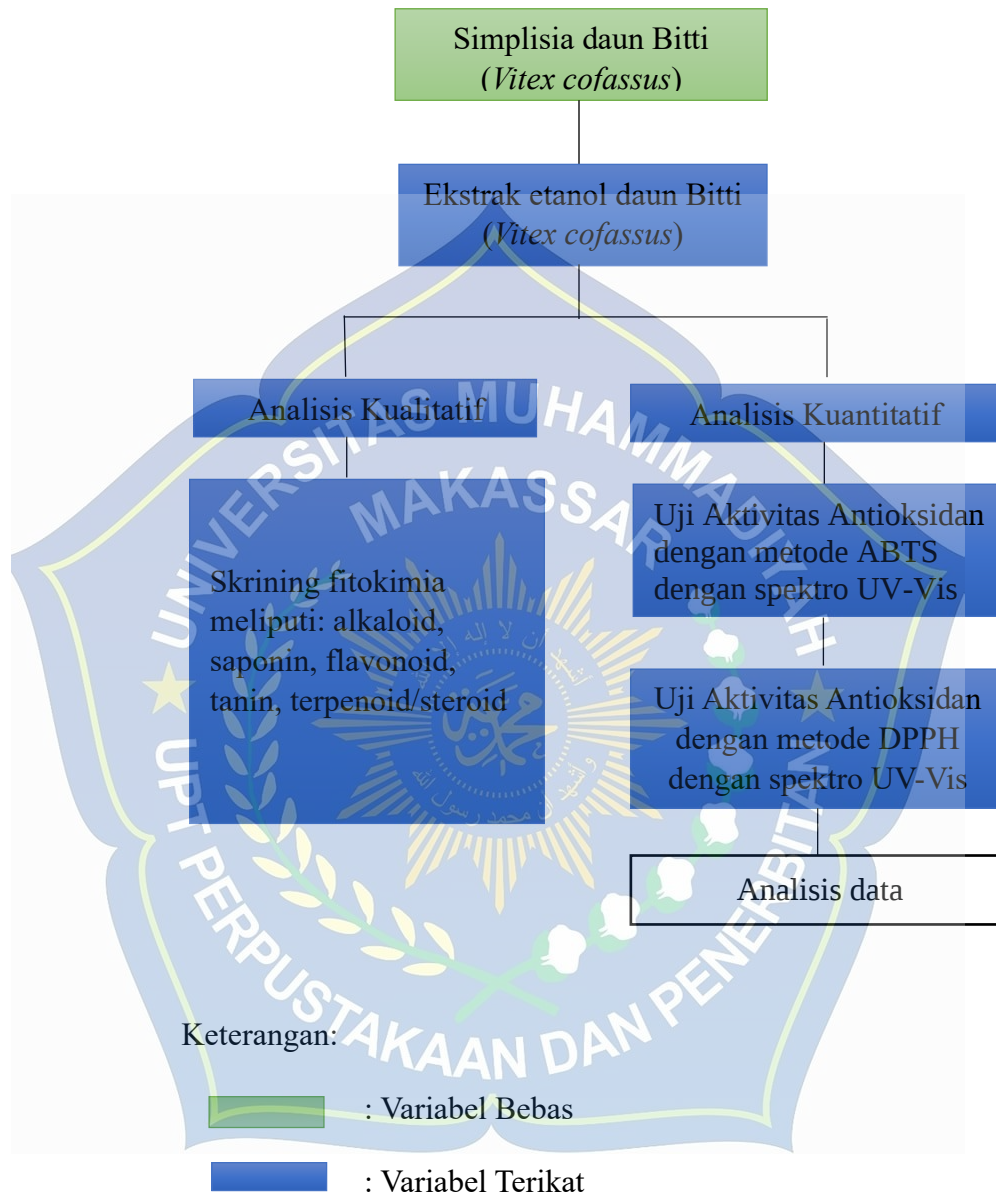
- a. Sampel harus larut sempurna
- b. Pelarut yang digunakan tidak terdapat ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna
- c. Tidak adanya interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- d. Memiliki kemurniaan yang tinggi (Suhartati Tati, 2017).

Tabel 2.2 Absorpsi sinar UV pada λ maks beberapa pelarut

Pelarut	λ maks	Pelarut	λ maks,nm
Asetronitril	190	n-heksana	201
Kloroform	240	Methanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzene	285	Pirida	305

Pelarut yang umum digunakan yakni air, etanol, methanol dan n-heksan dikarenakan pelarut tersebut transparan pada daerah UV untuk menghasilkan spektrum UV yang baik konsentrasi sampel perlu diperhatikan (Suhartati Tati, 2017)

K. Kerangka Konsep



BAB III

METODE KERJA

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode uji kualitatif meliputi pengolahan sampel hingga pembuatan ekstrak dan uji kuantitatif antioksidan menggunakan ekstrak daun Bitti (*Vitex cofassus*) dengan metode ABTS dan DPPH secara spektrofotometri UV-Vis

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – Juni 2025. Bertempat di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia dan Laboratorium Penelitian Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, cawan porselin, corong (Pyrex[®]), gelas kimia (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), hotplate (Oxone[®]), labu ukur (Iwaki), rak tabung, rotary evaporator (IKA 8HB digital[®]), tabung reaksi (Iwaki), timbangan analitik (Durascale dabe[®]), spektrofotometer UV-Vis (Barcov) dan wadah maserator.

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan yaitu ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*), asam asetat, asam klorida (HCL), asam sulfat (H_2SO_4), asam tartarat, bismut (III) nitrat, DPPH (*α,α -diphenyl- β picrylhydrazyl*), etanol pa, iodida, kalium iodida (KI), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), raksa klorida, serbuk magnesium (Mg) .

3. Tempat Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini sampel daun Bitti (*Vitex cofassus*) diperoleh dari Dusun Pandala Desa Laikang Kecamatan Mangarabombang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan.

4. Prosedur Kerja

1. Pengolahan Sampel

Sampel daun Bitti (*Vitex cofassus*) dilakukan sortasi basah dengan memisahkan dan dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang terdapat pada sampel tersebut. Kemudian dilakukan perajangan dengan memotong kecil-kecil sampel lalu dikeringkan pada sinar matahari tidak langsung (di angin-anginkan). Kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi simplisia.

2. Pembuatan Ekstrak

Dibuat ekstrak simplisia dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Masukkan satu bagian serbuk simplisia ke dalam maserator,

tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam simplisia selama 3 x 24 jam aduk sesekali. Pisahkan maserat dengan cara sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Isi maserat, lalu uapkan hingga diperoleh ekstrak kental dengan menggunakan rotavapor. Hitung rendemen yang diperoleh adalah persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan pada penimbangan (Kemenkes, 2017).

3. Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Untuk ekstrak kental etanol, tambahkan 20 ml kloroform, larutkan dan saring dengan HCL 10%. Hasil penyarian akan dibagi menjadi tiga kelompok dengan masing-masing kelompok ditambahkan 5 ml HCL dan disimpan dalam tabung reaksi. Endapan putih terbentuk ketika satu tetes pereaksi Mayer ditambahkan, yang menunjukkan adanya alkaloid. Ketika satu tetes pereaksi Dragendorff dimasukkan ke dalam tabung kedua, alkaloid hadir karena terbentuk endapan berwarna oranye. Alkaloid hadir ketika endapan berwarna oranye terbentuk. Ketika satu tetes pereaksi Wagner dimasukkan ke dalam tabung ketiga, alkaloid hadir ketika endapan coklat terbentuk (Kiyato, 2022)

b. Uji Saponin

Diambil ekstrak kental kemudian dididihkan akuades sebanyak 5 ml masukkan ke dalam tabung reaksi lalu kocok. Kemudian tambahkan 1 tetes

HCL kocok kembali. Terdapat busa pada sampel jika positif saponin (Annisa & Najib, 2022).

c. Uji Flavonoid

Diambil ekstrak kental masukkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan akuades sebanyak 5 ml lalu panaskan hingga 5 menit. Kemudian di saring dan tambahkan HCL pekat sebanyak 5 tetes lalu tambahkan serbuk magnesium. Dengan adanya warna kuning, merah dan jingga sampel positif flavonoid (Abdilah *et al.*, 2022).

d. Uji Tanin

Diambil ekstrak kental masukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan sebanyak 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya kandungan tanin di tandai dengan warna biru tua atau hitam kehijauan (Abdilah *et al.*, 2022).

e. Uji Terpenoid/Steroid

Dilarutkan ekstrak kental dengan 0,5 ml kloroform lalu tambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 ml. Lalu tambahkan H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Adanya warna kecoklatan atau violet di tandai adanya kandungan terpenoid sedangkan dengan adanya warna biru kehijauan terkandung senyawa steroid kehijauan (Abdilah *et al.*, 2022).

4. Uji aktivitas antioksidan Metode ABTS

a. Pembuatan Larutan Stok Kuersetin

Timbang sebanyak 10 mg bubuk kuersetin yang dilarutkan dalam etanol p.a. menggunakan labu ukur 100 mL untuk mendapatkan konsentrasi

kuersetin 100 ppm. Setelah itu, ppm 2,4,6,8,10 disiapkan, dan etanol ditambahkan secara bertahap hingga garis batas tercapai dalam labu ukur 10 mL (Sari *et al.*, 2022)

b. Pembuatan Larutan Stok ABTS

Setelah melarutkan 76 mg larutan ABTS dalam 5 ml etanol dan 13 mg $K_2S_2O_8$ ditimbang dan kemudian dilarutkan dalam 5 mililiter etanol. Larutan $K_2S_2O_8$ dan ABTS digabungkan dalam ruang gelap dan dicukupkan dengan etanol hingga tanda batas labu ukur 25 ml kemudian diinkubasi selama 12-16 jam (Alim, Fauziah Noer, & Daniati 2023)

c. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Baku Pembanding

Dengan menggunakan 4 mL larutan stok ABTS dan larutan standar kuersetin, konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm disiapkan. Untuk mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-800 nm.

d. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel

Setelah menimbang 10 mg ekstrak etanol daun Bitti dan melarutkannya dalam 10 mL etanol, larutan stok sampel 100 ppm dibuat. Larutan ekstrak 100 ppm dipipet sebanyak 3 mL, 3,5 mL, 4 mL, 4,5 mL, dan 5 mL, masing-masing untuk membuat seri konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, dan 50 ppm. Larutan ini kemudian diinkubasi selama 30 menit, dan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm, yang direplikasi sebanyak tiga kali (Sari *et al.*, 2022)

e. Analisis Data

Analisis antioksidan menggunakan persamaan regresi linear. Besarnya presentase inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} dihitung melalui persamaan regresi linear, di mana konsentrasi sampel terletak pada sumbu x dan persentase inhibisi terdapat pada sumbu y. dari persamaan $y = bx + a$, dapat dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dengan

$$\text{rumus } IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

$y = 50$ (penghambat 50% oksidasi)

$x = IC_{50}$ (bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%)

$a = \text{slope}$

$b = \text{intersept}$

5. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Disiapkan dengan cara melarutkan 10 mg DPPH ke dalam etanol dan kemudian menambahkannya hingga mencapai tanda batas pada labu berukuran 100 ml (Islamiyati *et al.*, 2024).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH

2 ml larutan DPPH dicampurkan dengan etanol hingga mencapai garis batas dalam labu ukur 5 ml. Selanjutnya, absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

(Islamiyati *et al.*, 2024).

c. Penentuan Operating Time

2 ml larutan DPPH dicampurkan dengan etanol hingga mencapai garis batas dalam labu ukur 5 ml. Selanjutnya pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan interval 1 menit selama 1 jam sampai hasil absorbansi menjadi stabil (Islamiyati *et al.*, 2024).

d. Pembuatan Larutan Kuersetin Sebagai Pembanding

Larutan kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm disiapkan dengan menimbang 10 mg kuersetin yang kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 ml menggunakan etanol untuk mencapai volume 100 ml. Dari larutan induk kuersetin 100 ppm. Dibuat konsentrasi larutan standar kuersetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm, selama 19 menit diinkubasi. Setelah itu, absorbansi diukur pada Panjang gelombang maksimum 517 nm (Islamiyati *et al.*, 2024).

e. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bitti Dengan DPPH

Larutan dari ekstrak etanol daun Bitti dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg ekstrak etanol daun Bitti dan melarutkannya dalam etanol hingga mencapai batas 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan standar dibuat dengan konsentrasi

bertingkat yakni 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Larutan ekstrak 100 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, dan 2,5 ml, lalu ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH diikuti dengan penambahan etanol hingga batas 5 ml di labu ukur. Selama 19 menit diinkubasi pada ruangan gelap. Setelah itu, absorbansi diukur pada Panjang gelombang 517 nm (Islamiyati *et al.*, 2024).

f. Analisis Data

Analisis antioksidan menggunakan persamaan regresi linear. Besarnya presentase inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dihitung melalui persamaan regresi linear, di mana konsentrasi sampel terletak pada sumbu x dan persentase inhibisi terdapat pada sumbu y. dari persamaan $y = bx + a$, dapat dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ dengan

$$\text{rumus IC}_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

$y = 50$ (penghambat 50% oksidasi)

$x = \text{IC}_{50}$ (bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%)

$a = \text{slope}$

$b = \text{intersept}$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

1. Ekstraksi Sampel

Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi

Sampel	Berat Simplisia Kering (g)	Berat Ekstrak Kental (g)	Persen Rendamen (%)
Daun Bitti (<i>Vitex cofassus</i>)	500	16,16	3,23

2. Skrining Fitokimia

Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun Bitti (*Vitex cofassus*)

Senyawa	Pereaksi	Parameter	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	(-)
	Wagner	Endapan coklat	(-)
	Dragendroff	Endapan jingga	(-)
Saponin	Aquades panas	Terbentuk busa	(+)
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Merah jingga	(+)
Tanin	FeCl ₃ 3%	Biru tua/ hitam kehijauan	(+)

Terpenoid /steroid	Asam sulfat pekat + asam asetat	Terbentuk warna kecoklatan/violet (Terpenoid) dan terbentuk warna biru kehijauan (steroid)	(-)

Keterangan:

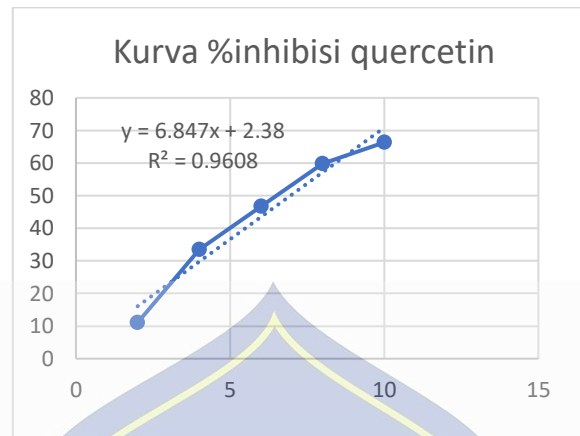
+ : positif

- : Negatif

3. Pengukuran Antioksidan dengan ABTS

Tabel 4.3 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan kontrol Kuersetin

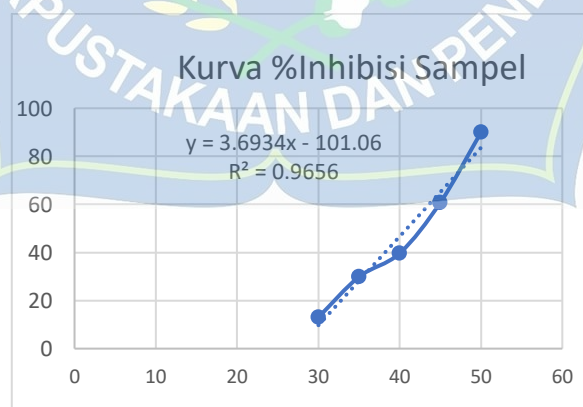
Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% inhibisi	IC ₅₀
Kuersetin	2	0,398	0,354	11,05%	6,95 µg/ml
	4		0,265	33,41%	
	6		0,212	46,73%	
	8		0,160	59,79%	
	10		0,134	66,33%	



Gambar 4.1 Kurva absorbansi quercetin ABTS

Tabel 4.4 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan Sampel

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi kontrol	Absorbansi sampel	% inhibisi	IC ₅₀
Daun Bitti	30	0,398	0,346	13,06%	40,49 µg/ml
	35		0,279	29,89%	
	40		0,240	39,69%	
	45		0,156	60,80%	
	50		0,040	89,94%	

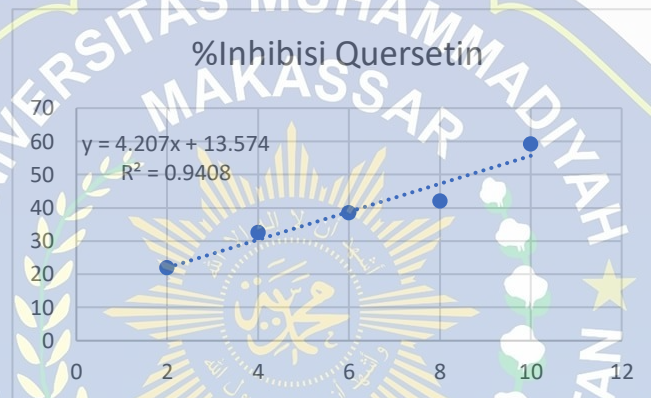


Gambar 4.2 Kurva absorbansi sampel ABTS

4. Pengukuran Antioksidan dengan DPPH

Tabel 4.5 Hasil pengukuran aktivitas antioksidan kontrol Kuersetin

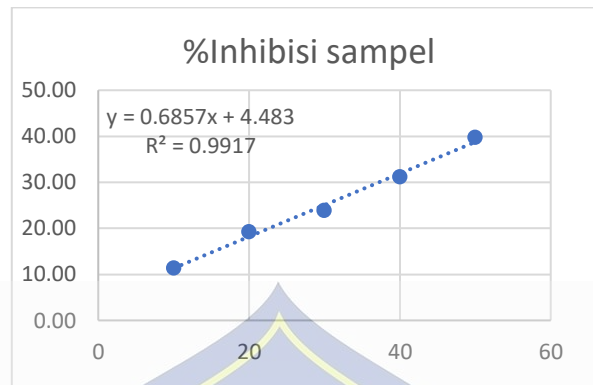
Sampel	Konsentrasi	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
			R1	R2	R3			
Kuersetin	2	0,662	0,522	0,517	0,513	0,517	21,90	8,67 μg/ml
	4		0,454	0,447	0,441	0,447	32,47	
	6		0,411	0,407	0,403	0,407	38,51	
	8		0,385	0,388	0,381	0,384	41,99	
	10		0,271	0,271	0,270	0,270	59,21	



Gambar 4.3 Kurva absorbansi kuersetin DPPH

Tabel 4.6 pengukuran aktivitas antioksidan Sampel

Sampel 3	Konsentrasi	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
			R1	R2	R3			
Daun Bitti	10	0,662	0,587	0,586	0,586	0,586	11,40	66,38 μg/ml
	20		0,536	0,535	0,535	0,535	19,18	
	30		0,504	0,504	0,504	0,504	23,86	
	40		0,457	0,457	0,456	0,456	31,11	
	50		0,399	0,399	0,399	0,399	39,72	



Gambar 4.4 Kurva absorbansi sampel DPPH

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan sampel daun Bitti (*Vitex cofassus*) yang di peroleh dari Dusun Pandala, Desa Laikang Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan. Daun Bitti (*Vitex cofassus*) diambil pada pagi hari dengan daun muda dan daun tua.

Serbuk simplisia daun Bitti (*Vitex cofassus*) kemudian di maserasi . Maserasi dilakukan dengan perendaman etanol 96% selama 3 x 24 jam. Kemudian sampel tersebut di saring menggunakan kertas penyaring agar dapat terpisahkan maserat dengan filtratnya. Kemudian di pekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Ekstrak yang telah di pekatkan, diangin-anginkan untuk memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun Bitti diperoleh sebesar 16,16 gram dari 500 gram simplisia sehingga diperoleh % rendemen sebesar 3,232%.

Pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid dengan menimbang sampel sebanyak

0,5 gram kemudian di larutkan dengan etanol 96%, di saring kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan di tetesi dengan pereaksi. Hasil uji skrining fitokimia negatif alkaloid setelah ditetesi dengan pereaksi meyer tidak terbentuk endapan berwarna putih. Pereaksi dragendroff tidak terbentuk endapan berwarna jingga dan pereaksi wagner tidak terbentuk endapan berwarna coklat. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian (Blume *et al.*, 2024) yang menyatakan daun bitti mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dikarenakan tempat tumbuh tanaman yang berbeda sehingga mempengaruhi kandungan senyawa suatu tanaman.

Senyawa flavonoid diuji dengan penambahan HCL dan serbuk magnesium didapatkan hasil positif karena warnanya berubah menjadi merah jingga. Pengujian senyawa saponin didapatkan hasil positif dikarenakan terbentuk busa yang stabil selama 3-5 menit.

Hasil uji senyawa tanin didapatkan hasil positif ketika menggunakan reagen FeCl_3 1% untuk uji tanin, warna berubah menjadi hitam kehijauan, yang mengindikasikan adanya tanin. Dan pengujian senyawa steroid/terpenoid didapatkan hasil negatif tidak terbentuknya warna kehijauan pada sampel. Hal ini sesuai dengan penelitian (Blume *et al.*, 2024) yang menyatakan daun Bitti positif mengandung senyawa flavonoid, saponin Tanin dan terpenoid.

Pada pengujian antioksidan digunakan dua metode yaitu ABTS dan DPPH dengan pembanding kuersetin. Kuersetin merupakan zat yang terdapat pada tanaman dan sekitar 60-75% flavonoid terdiri dari kuersetin dan glikosida.

Kuersetin juga memiliki antioksidan kuat yang dapat memerangi radikal bebas dan memiliki struktur senyawa kuersetin mengandung gugus -OH

(Nurwadian,2021) menggunakan spektrofotometer UV-Vis metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) Adalah senyawa

organik radikal kationik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan (Munisa,2023). Berdasarkan hasil penelitian ekstrak etanol daun Bitti

menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 734 nm memiliki aktivitas antioksidan pada kuersetin ditunjukkan dengan nilai IC_{50}

sebesar 6,95 $\mu\text{g/ml}$ dengan R^2 0,9608, $y = 6.847 + 2.38$ sedangkan nilai IC_{50} sampel daun Bitti sebesar 40,89 $\mu\text{g/ml}$ dengan R^2 0,9656, $y = 3.6934 - 101.06$.

Hasil nilai IC_{50} ekstrak etanol daun bitti dan baku pembanding kuersetin termasuk dalam kategori kuat.

Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH (α, α -diphenyl- β picrylhydrazyl) adalah radikal bebas yang stabil. Berdasarkan hasil penelitian

ekstrak etanol daun bitti menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm diperoleh nilai IC_{50} pada kuersetin sebesar 8,674

$\mu\text{g/mL}$ dengan R^2 0,9408, $y = 4.207 + 13.574$ sedangkan nilai IC_{50} sampel daun Bitti sebesar 66,38 $\mu\text{g/mL}$ R^2 0,9917, $y = 0.6857 + 4.483$. Sedangkan penelitian

oleh (Suhaenah *et al.*, 2024) dilakukan uji aktivitas antioksidan pada daun Bitti (*Vitex cofassus*) dengan metode DPPH. Dari hasil penelitian tersebut dapat

disimpulkan bahwa daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki potensi kuat sebagai antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} terhadap DPPH sebesar 56,59 $\mu\text{g/mL}$.

Kuersetin sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} 5,93 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} didapatkan dari persamaan regresi linear dimana konsentrasi larutan (x) dan % inhibisi (y) dengan mensubstitusi $y=50$. Nilai R^2 yang diperoleh pada hasil pengamatan merupakan nilai yang mendekati +1 menunjukkan hubungan yang baik antara konsentrasi dan persentase penghambatan (Ulfi, 2022). Semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi menurun karena adanya senyawa yang berperan sebagai penangkap radikal dan akan mengurangi penurunan DPPH-H. Proses ini ditandai dengan perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning setelah elektron dari radikal tersebut dihubungkan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas. Radikal bebas menyerap bahan. Antioksidan pada tanaman akan menetralkan radikal DPPH dengan memberikan elektron, yang akan mengubah warna larutan dari ungu menjadi kuning atau menurunkan intensitas warna ungu. DPPH memungkinkan pengukuran spektrofotometri dengan menghilangkan warna secara proporsional dengan jumlah elektron yang diserapnya (Putriyana, 2023). Tanaman daun Bitti termasuk dalam karakteristik antioksidan sangat kuat dengan metode ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*) dan karakteristik antioksidan kuat dengan metode DPPH (*α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl*) berdasarkan karakteristik aktivitas antioksidan menurut (Kholifah, Nurazizah & Noviyanto 2023) nilai IC_{50} <50 ppm sangat kuat, 50-100 ppm kuat, 101-150 ppm sedang, 151-200 ppm lemah dan >200 ppm sangat lemah.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan metode ABTS ditunjukan dengan nilai IC_{50} sebesar 40,89 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan nilai IC_{50} baku pembanding kuersetin sebesar 6,95 $\mu\text{g/mL}$.
2. Ekstrak etanol daun Bitti (*Vitex cofassus*) memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan metode DPPH ditunjukan dengan nilai IC_{50} sebesar 66,38 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai baku pembanding kuersetin sebesar 8,674 $\mu\text{g/mL}$

B. Saran

Disarankan agar peneliti selanjutnya membuat sediaan herbal farmasi pada tanaman daun Bitti (*Vitex cofassus*)

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, Nurullah Asep, Firman Rezaldi, Fernanda Desmak Pertiwi & M. Fariz Fadillah. (2022). “Fitokimia Dan Skrining Awal Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L.*)” *Medfarm: Jurnal Farmasi dan Kesehatan* 11(1): 44–61.
- Alim, Nur, Sitti Fauziah Noer & Wa Daniati. (2023). “Aktivitas Antioksidan Klika Awar-Awar (*Ficus Septica Burm. F*) Asal Tanah Buton Selatan Dengan Metode ABTS.” *Jurnal Novem Medika Farmasi* 1(3): 113. doi:10.59638/junomefar.v1i3.541.
- Angraini, Novi & Fitri Yanti. (2021). “Penggunaan Spektrofotometer Uv-Vis Untuk Analisis Nutrien Fosfat Pada Sedimen Dalam Rangka Pengembangan Modul Praktikum Oseanografi Kimia.” *Jurnal Penelitian Sains* 23(2): 78. doi:10.56064/jps.v23i2.620.
- Anjarsari, Desy Siswi, Agustin Nur Imaningsih, Indi Arviani & Achmad Yogi Prasetyo. (2025). “Hubungan Penggunaan Face Mist Berbahan Dasar Alami Terhadap Kesehatan Kulit Wajah Pada Cuaca Ekstrem Di Kalangan Masyarakat Kabupaten Jombang.” 5: 1090–1102.
- Annisa, Nur & Sarah Zielda Najib. (2022). “Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Total Fenol.” *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Herbal Medicine* 1(2): 96–104.
- Baturante, Khadijah & Tahar. (2024). “Penentuan Total Flavonoid Dan Total Fenolik Ekstrak Metanol Daun Gofasa (*Vitex cofassus*) Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis.” *SAINTIFIK@: Jurnal Pendidikan MIPA* 8(2). doi:10.33387/saintifik.v8i2.7333.
- Blume (2024). “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bitti (*Vitex cofassus* Reinw .” 2(3): 496–505.
- Darmojo, P. (2013). “Analisis Nilai Tegakan Berbasis Produksi Kayu Dan Produksi Benih Pada Tegakan Benih Bitti (*Vitex cofassus* Reinw.) Di Kabupaten

- Bulukumba, Provinsi Sulawesi Selatan.” *Tesis*: Universitas Hasanuddin. 1-86.
- Depkes RI. (1986). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. doi:10.31869/mi.v17i1.4748.
- Depkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Devahimer Harsep Rosi, Tika Afriani, & Hasnah Alysa Putri. (2023). “Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.).” *SITAWA : Jurnal Farmasi Sains dan Obat Tradisional*. 2(2):18093. doi:10.62018/sitawa.v2i2.66.
- Erma Novita Sari, Ade et al., Universitas Duta Bangsa, Jalan Pinang Nomor, and Jawa Tengah Indonesia. (2022). “Determination of Flavonoid Levels Total and Test Antioxidant Activity from Ethanol Extracts and Fractions Waru Skin (*Hibiscus Tiliaceus* L.) with ABTS Method.” *Jurnal Jamu Kusuma* 2(2): 96–106.
- Famila, Mutiananda. (2023). “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Bakau (*Rhizophora Apiculate* Blum) Dengan Metode ABST.” *Pharmaceutical Scientific Journal* 02(02): 91–99. doi:10.36074/logos-27.10.2023.20.
- Haerani, Ani, Siska Syahfitri, Reti Puji Handayani, Raden Ajeng Nursamtari, Mida Hamidah, Samuel David Makoil & Gabriela Welma Litaay. (2023). *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. *Farmakognosi Dan Fitokimia*.
- Handoyo Sahumena, Muhamad, Ruslin Ruslin, Asriyanti Asriyanti, & Endah Nurrohwinata Djuwarno. (2020). “Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.” *Journal Syifa Sciences and Clinical Research* 2(2): 65–72. doi:10.37311/jsscr.v2i2.6977.
- Haryanto *et al.*, (2024). *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. *Fitokimia Dan Farmakognosi*. 2024th ed. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951-952.
- Hujjatusnaini *et al.*, (2021). 11 Buku Referensi Ekstraksi *Institut Agama Islam Negeri*

Palangkaraya.

Husna, Puja A U, Carla F Kairupan, & Poppy M Lintong. (2022). “Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid Pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan Dan Antiinflamasi.” *eBiomedik* 10(1): 76–83.

Irianti, Tatang. (2017). *Antioksidan*. Yogyakarta.

Islamiyati, R, D E Mugitasari, L N Nafiah, & I Jayanto. (2024). “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa Menggunakan Radikal Bebas DPPH (*Difenilpicrilhidrazil*).” 13: 611–18. doi:10.35799/pha.13.2024.55951.

Kemenkes, R I. (2017). “*Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*.” Jakarta.

Kesuma, Yenrina. (2015). *Antioksidan Alami Dan Sintetik*.

Khadijah, Nurjannah Baturante, Sernita, Sabir Sumarna, & Ahmad Muchsin Jayali. (2024). “Penapisan Fitokimia Ekstrak Metanol Akar Gofasa (*Vitex cofassus*) Asal Pulau Halmahera Dan Potensinya Sebagai Antioksidan Dan Antikolesterol.” *SAINTIFIK@: Jurnal Pendidikan MIPA* 9(1):37- 43. doi:10.33387/saintifik.v9i1.8399.

Kholifah, Eva, Dewi Nurazizah, & Fajrin Noviyanto. (2023). “Antioxidant Activity and Vitamin C Concentration Analysis of Gandaria (*Bouae Macrophylla* Griff) Ethanol Extract Using Spectrophotometry UV Vis.” *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science* 3(2): 54–63. doi:10.18196/jfaps.v3i2.15992.

Kurnia, Nani & Oslan Jumadi. (2019). Jurusan Biologi FMIPA UNM *Atlas Tumbuhan Sulawesi Selatan*.

Lismawati, Tutik, & Nofita. (2021). “Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Antioksidan Terhadap Ekstrak Buah Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*).” *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia* 7(2): 263–73.

Melo & Rahmadani. (2022). “Dampak Perubahan Iklim Terhadap Kesehatan Manusia.” *Jurnal Penelitian Geografi (GeoJPG)* 1(1): 40–45.

Mu'nisa. (2023). “Antioksidan Pada Tanaman Dan Peranannya Terhadap Penyakit Degeneratif.” *Brilian Internasional Surabaya*: 91–106.

Muthmainnah. (2019). “Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak

Etanol Buah Delima (*Punica Granatum* L) Dengan Metode Uji Warna.” *Media Farmasi* 11(1): 92–105.

Nurkhasanah, M Apt, Apt Si, Saiful Mochammad, S Bachri, M Si, Drh Sapto Si, & M P Yuliani. (2023). *Antioksidan Dan Stres Oksidatif*.

Probo. (2019). Sustainability (Switzerland) *Antioksidan Bahan Pangan Dan Pengukuran Aktivitasnya*.<http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484-Sistem-Pembentukan-Terpusat-Strategi-Melestaril>.

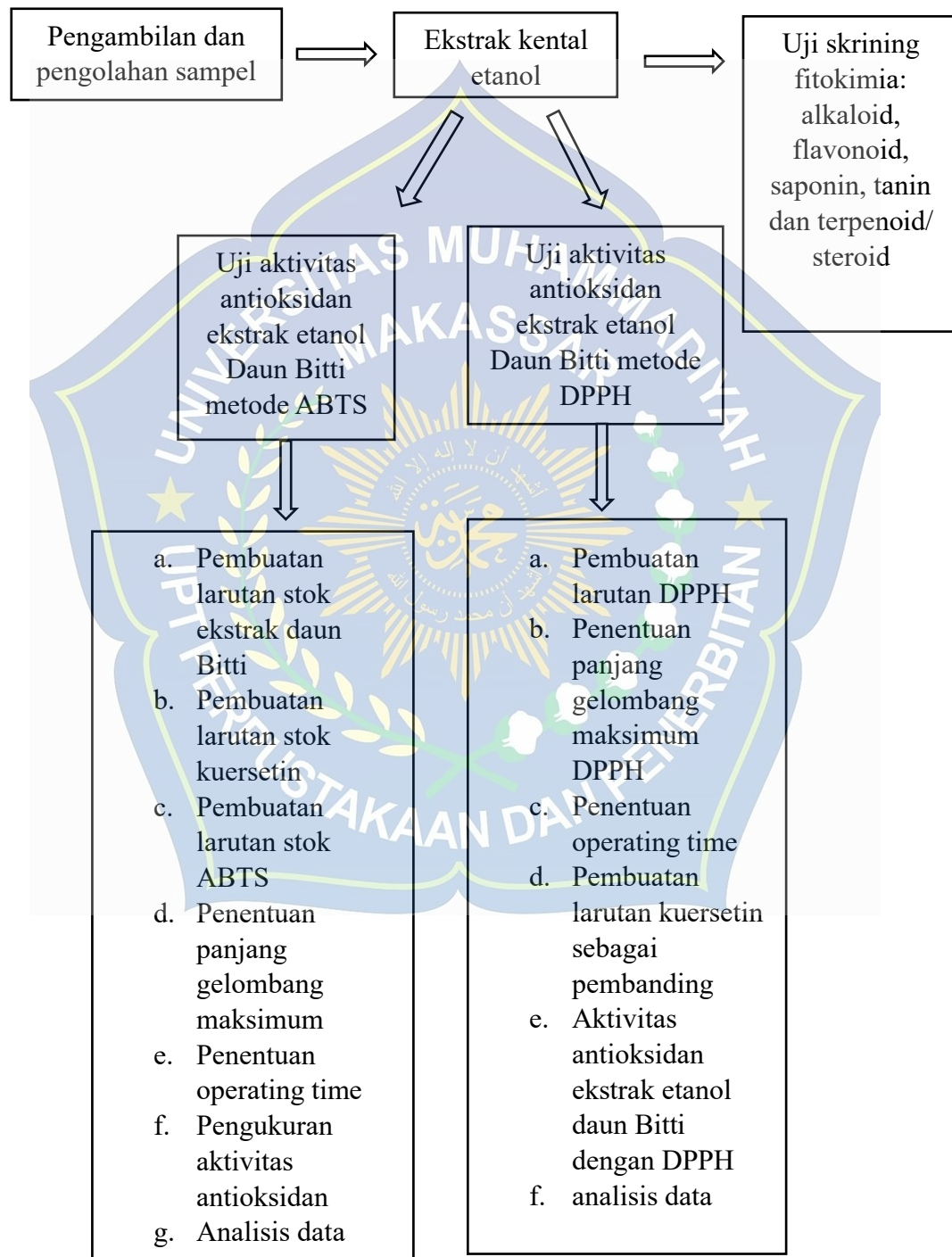
Suhartati Tati. (2017). *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*.11 AURA CV. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung: AURA CV. Anugrah Utama Raharja.

Wibawa, Agung Ari Chandra. (2021). “Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kakao (*Theobroma Cacao*. L) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.” *Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia* 9(1): 30. doi:10.33394/hjkk.v9i1.3794.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



2. Perhitungan

1) Perhitungan Rendemen Ekstrak

Berat Simplisia : 500 gram

Berat Ekstrak : 16,16 gram

% Rendemen : $\frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100 \%$

$$: \frac{16,16 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$: 3,23 \%$$

2) Perhitungan Pembuatan Larutan ABTS

$$M = \frac{gr}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$$

$$0,007 = \frac{gr}{548,68} \times \frac{1000}{20}$$

$$gr = \frac{0,007 \times 548,68}{50} = 76 \text{ mg}$$

3) Perhitungan Kalium Persulfat

$$M = \frac{gr}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$$

$$0,00245 = \frac{gr}{170,32} \times \frac{1000}{20}$$

$$gr = \frac{0,00245 \times 170,32}{50} = 13 \text{ mg}$$

4) Perhitungan Pembuatan Konsentrasi ppm ABTS

a. Pembuatan Larutan Baku Pembanding Kuersetin

$$\frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 10 = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

b. Pembuatan Larutan Pembanding dengan Konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm,

8 ppm dan 10 ppm

$$2 \text{ ppm} : \frac{2 \times 5}{100} = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu\text{L}$$

$$4 \text{ ppm} : \frac{4 \times 5}{100} = 0,2 \text{ ml} = 200 \mu\text{L}$$

$$6 \text{ ppm} : \frac{6 \times 5}{100} = 0,3 \text{ ml} = 300 \mu\text{L}$$

$$8 \text{ ppm} : \frac{8 \times 5}{100} = 0,4 \text{ ml} = 400 \mu\text{L}$$

$$10 \text{ ppm} : \frac{10 \times 5}{100} = 0,5 \text{ ml} = 500 \mu\text{L}$$

c. Pembuatan larutan ABTS dan sampel dengan konsentrasi 30,35,40,45,50

$$30 \text{ ppm} : \frac{30 \times 10}{100} = 3 \text{ ml}$$

$$35 \text{ ppm} : \frac{35 \times 10}{100} = 3,5 \text{ ml}$$

$$40 \text{ ppm} : \frac{40 \times 10}{100} = 4 \text{ ml}$$

$$45 \text{ ppm} : \frac{45 \times 10}{100} = 4,5 \text{ ml}$$

$$50 \text{ ppm} : \frac{50 \times 10}{100} = 5 \text{ ml}$$

5) Perhitungan % Inhibisi

a. Perhitungan % Inhibisi kuersetin

$$2 \text{ ppm} : \frac{0,398 - 0,354}{0,398} \times 100\% = 11,05\%$$

$$4 \text{ ppm} : \frac{0,398 - 0,265}{0,398} \times 100\% = 33,41\%$$

$$6 \text{ ppm} : \frac{0,398 - 0,212}{0,398} \times 100\% = 46,73\%$$

$$8 \text{ ppm} : \frac{0,398 - 0,160}{0,398} \times 100\% = 59,79\%$$

$$10 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,134}{0,398} \times 100\% = 66,33\%$$

b. Perhitungan % Inhibisi sampel

$$30 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,346}{0,398} \times 100\% = 13,06\%$$

$$35 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,279}{0,398} \times 100\% = 29,89\%$$

$$40 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,240}{0,398} \times 100\% = 39,69\%$$

$$45 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,156}{0,398} \times 100\% = 60,80\%$$

$$50 \text{ ppm} : \frac{0,398-0,040}{0,398} \times 100\% = 89,94\%$$

6) Perhitungan antioksidan DPPH

a. Pembuatan Larutan Baku Pembanding Kuersetin dan sampel

$$\frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \times 10 = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

b. Pembuatan Larutan Pembanding dengan Konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm,

8 ppm dan 10 ppm

$$2 \text{ ppm} : \frac{2 \times 5}{100} = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu\text{L}$$

$$4 \text{ ppm} : \frac{4 \times 5}{100} = 0,2 \text{ ml} = 200 \mu\text{L}$$

$$6 \text{ ppm} : \frac{6 \times 5}{100} = 0,3 \text{ ml} = 300 \mu\text{L}$$

$$8 \text{ ppm} : \frac{8 \times 5}{100} = 0,4 \text{ ml} = 400 \mu\text{L}$$

$$10 \text{ ppm} : \frac{10 \times 5}{100} = 0,5 \text{ ml} = 500 \mu\text{L}$$

c. Pembuatan larutan DPPH dan sampel dengan konsentrasi 10,20,30,40,50

$$10 \text{ ppm} : \frac{10 \times 5}{100} = 0,5 \text{ ml} = 500 \mu\text{L}$$

$$20 \text{ ppm} : \frac{20 \times 5}{100} = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{L}$$

$$30 \text{ ppm} : \frac{30 \times 5}{100} = 1,5 \text{ ml} = 1500 \mu\text{L}$$

$$40 \text{ ppm} : \frac{40 \times 5}{100} = 2 \text{ ml} = 2000 \mu\text{L}$$

$$50 \text{ ppm} : \frac{50 \times 5}{100} = 2,5 \text{ ml} = 2500 \mu\text{L}$$

7) Perhitungan % Inhibisi DPPH

a. Perhitungan % Inhibisi kuersetin

$$2 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,517}{0,662} \times 100\% = 21,90\%$$

$$4 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,447}{0,662} \times 100\% = 32,47\%$$

$$6 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,407}{0,662} \times 100\% = 38,51\%$$

$$8 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,384}{0,662} \times 100\% = 41,99\%$$

$$10 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,270}{0,662} \times 100\% = 59,21\%$$

b. Perhitungan % Inhibisi sampel

$$10 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,586}{0,662} \times 100\% = 11,48\%$$

$$4 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,535}{0,662} \times 100\% = 19,18\%$$

$$6 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,504}{0,662} \times 100\% = 23,86\%$$

$$8 \text{ ppm} : \frac{0,662 - 0,456}{0,662} \times 100\% = 31,11\%$$

$$10 \text{ ppm} : \frac{0,662-0,399}{0,662} \times 100\% = 39,72 \%$$

8) Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ ABTS

1. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ Kontrol Kuersetin

$$y = 6,847x - 2,38$$

$$50 = 6,847x - 2,38$$

$$50 + 2,38 = 6,847x$$

$$47,62 = 6,847x$$

$$x = \frac{47,62}{6,847} = 6,95 \text{ } \mu\text{g/ml (Sangat kuat)}$$

2. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ Sampel + ABTS

$$y = 3,6934x - 101,06$$

$$50 = 3,6934x - 101,06$$

$$50 + 101,06 = 3,6934x$$

$$151,06 = 3,6934x$$

$$x = \frac{151,06}{3,6934}$$

$$= 40,89 \text{ } \mu\text{g/ml (Sangat kuat)}$$

9) Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ DPPH

1. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ Kontrol Kuersetin

$$y = 4,207x - 13,574$$

$$50 = 4,207x - 13,574$$

$$36,426 = 4,199x$$

$$x = 8,674\text{mg/L sangat kuat}$$

2. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ Sampel + DPPH

$$y = 0,6857x - 4,483$$

$$50 = 0,6857x - 4,483$$

$$45,517 = 0,6857x$$

$$x = 66,38\text{mg/L kuat}$$

10) Perhitungan Penetapan Persamaan Regresi ABTS

a. Regresi Kuersetin ABTS

No	x	y	x ²	y ²	xy
1	2	11,05	4	122,1025	22,10
2	4	33,41	16	1115,9881	133,64
3	6	46,73	36	2183,8729	280,38
4	8	59,79	64	3574,8841	478,32
5	10	66,33	100	2400,6889	663,30
Σ	30,00	217,31	220,00	11396,5365	1577,74

$$r = \frac{n\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{n\sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n\sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1577,74) - (30,00)(217,31)}{\sqrt{5(220,00) - (30,00)^2} \sqrt{5(11396,5365) - (217,31)^2}}$$

$$r = \frac{1369,40}{1396,00}$$

$$r = 0,9801 \approx 0,9608$$

b. Slope Kuersetin ABTS

$$b = \frac{n\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(1577,74) - (30,00)(217,31)}{5(220,00) - (30,00)} = 6,847,30$$

Ketik persamaan di sini.

c. Intersept Kuersetin ABTS

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

$$a = \frac{217,31 - 6,847,30}{5} = 2,3$$

d. Regresi Sampel ABTS

No	x	y	x ²	y ²	xy
1	30	13,06	900,00	170,5636	391,8000
2	35	29,89	1225,00	893,4121	1046,1500
3	40	39,69	1600,00	1575,2961	1587,6000
4	45	60,80	2.025,00	3696,6400	2736,0000
5	50	89,94	2500,00	8089,2036	4497,0000
Σ	200	233,38	8250,00	14425,1154	10258,5500

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

$$r = \frac{5(10258,500) - (200)(233,38)}{\sqrt{5(8250,00) - (200)^2} \sqrt{5(14425,1154) - (233,38)^2}}$$

$$r = \frac{4616,75}{4698,3179}$$

$$r = 0,9826 \approx 0,9656$$

e. Slope Sampel ABTS

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(10258,5500) - (200)(233,38)}{5(8250,00) - (200)^2} = 3,6934$$

f. Intersept Sampel ABTS

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

$$a = \frac{233,38 - 3,6934 (200)}{5} = -101,06$$

11) Perhitungan Penetapan Persamaan Regresi DPPH

a. Regresi Kuersetin DPPH

No	x	y	x ²	y ²	xy
1	2	21,90	4	479,61	4380,00
2	4	32,47	16	1054,3009	1298,800
3	6	38,51	36	1483,0201	2310,600
4	8	41,99	64	1763,1601	3359,200
5	10	59,21	100	3505,8241	5921,000
Σ	30,00	194,08	220,00	8285,9152	1332,76

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

$$r = \frac{5(1332,76) - (30,00)(194,08)}{\sqrt{5(220,00) - (30,00)^2} \sqrt{5(8285,9152) - (194,08)^2}}$$

$$r = \frac{841,40}{867,825}$$

$$r = 0,9699 \approx 0,940$$

b. Slope Sampel DPPH

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(1332,76) - (30,00)(194,08)}{5(220,00) - (30,00)^2} = 4,207$$

c. Intersept Sampel DPPH

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

$$a = \frac{194,08 - 4207 (30,00)}{5} = 13,574$$

d. Regresi Sampel DPPH

No	x	y	x ²	y ²	xy
1	10	11,40	100	129,9600	114,00
2	20	19,18	400	367,8724	383,600
3	30	23,86	900	569,2996	715,800
4	40	31,11	1600	967,8321	1244,400
5	50	39,72	2500	157,7684	1986,00
Σ	150	125,27	5500	3612,6425	4443,800

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}}$$

$$r = \frac{5(444,800) - (150)(125,27)}{\sqrt{5(5500) - (150)^2} \sqrt{5(8285,9152) - (125,27)^2}}$$

$$r = \frac{3428,5}{344,466}$$

$$r = 0,99580 \approx 0,990$$

e. Slope Kuersetin DPPH

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(444,800) - (150)(125,27)}{5(5500) - (150)^2} = 0,6857$$

f. Intersept Kuersetin DPPH

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

$$a = \frac{125,27 - 0,6857 (150)}{5} = 4,483$$



Lampiran 3. Pengolahan dan Proses Ekstraksi Sampel



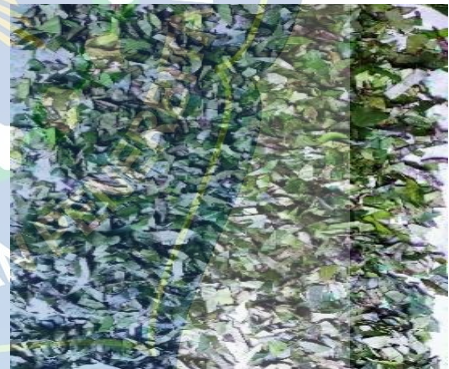
Gambar 5. Pengambilan Sampel



Gambar 6. Perajangan Sampel



Gambar 7. Pencucian Sampel



Gambar 8. Pengeringan Sampel



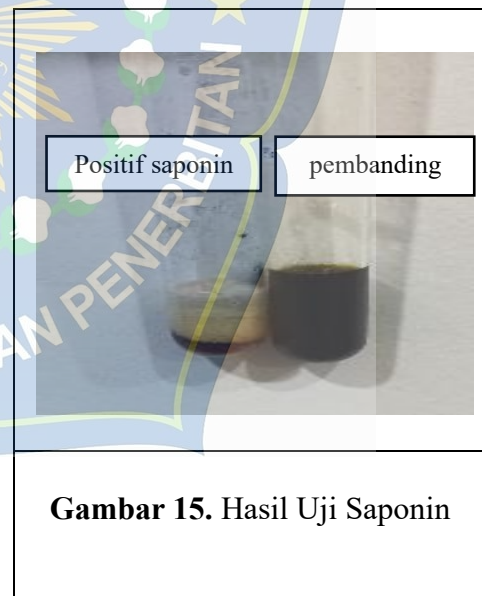
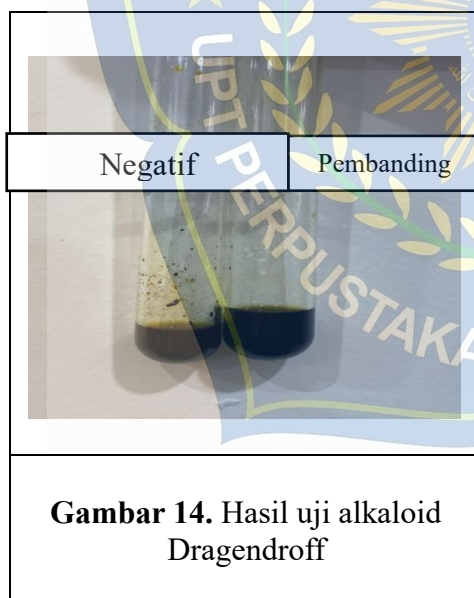
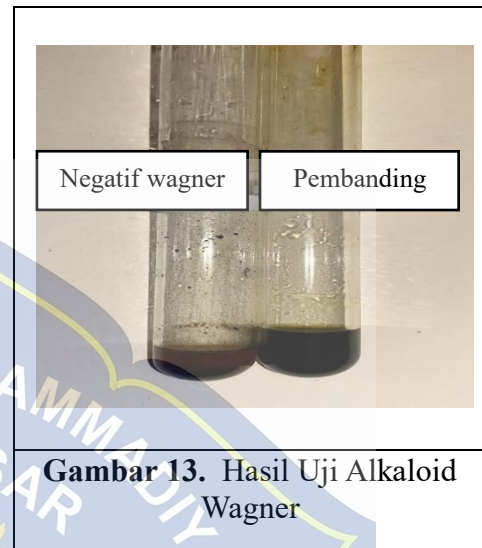
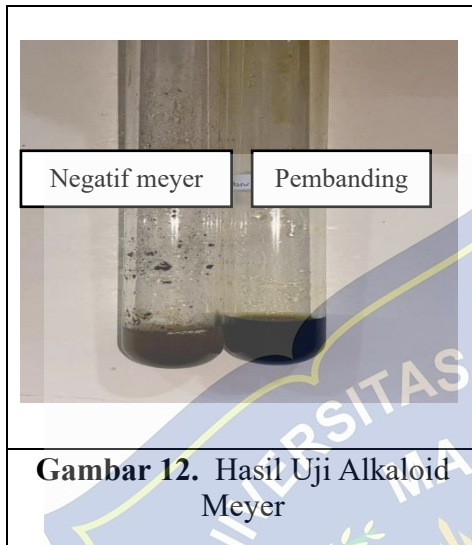
Gambar 9. Proses Maserasi Sampel

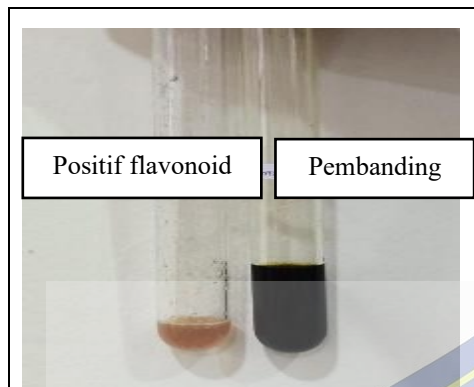


Gambar 10. Pemekatan Filtrat Dengan Rotary Evaporator

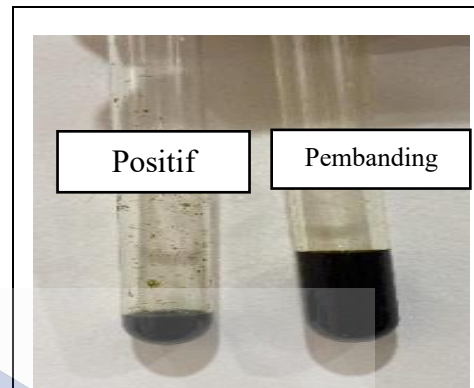


Gambar 11. Hasil Ekstraksi Kental

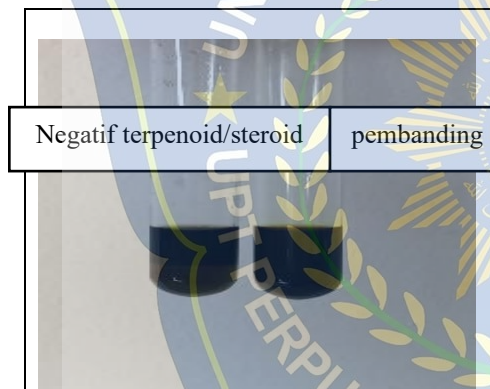
Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia



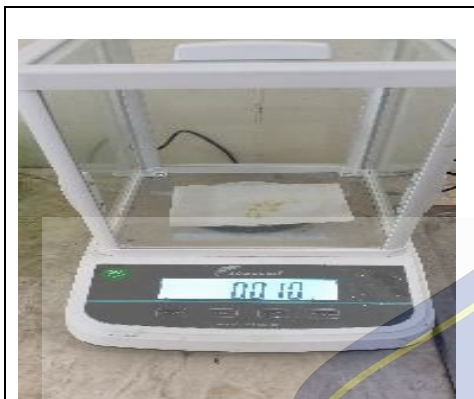
Gambar 16. Hasil uji flavonoid



Gambar 17. Hasil uji alkaloid tanin



Gambar 18. Hasil uji terpenoid/steroid

Lampiran 5. Pengukuran Antioksidan dengan ABTS

Gambar 19. Penimbangan bahan uji



Gambar 20. Pembuatan larutan uji



Gambar 21. Larutan uji pembanding



Gambar 22. Larutan uji ABTS sebelum diinkubasi



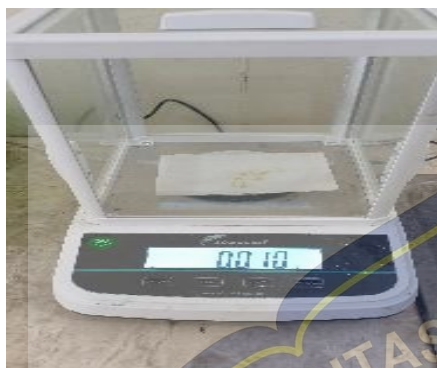
Gambar 23. Larutan uji ABTS setelah diinkubasi



Gambar 24. Pengukuran serapan pada spektrofotometer UV-VIS



Lampiran 6. Pengukuran Antioksidan dengan DPPH



Gambar 25. Penimbangan bahan uji



Gambar 26. Pembuatan larutan uji



Gambar 26. Larutan Uji Pembanding



Gambar 27. Larutan uji DPPH



Gambar 21. Larutan uji pembanding



Lampiran 7. Hasil Pengukuran Antioksidan pembeding ABTS

No.	Nama	Abs(743,0)	Conc(mg/L)
1	Abts+Quercetin	0,134	10,000
2	Abts+Quercetin	0,135	10,000
3	Abts+Quercetin	0,135	10,000
4	Abts+Quercetin	0,161	8,0000
5	Abts+Quercetin	0,160	8,0000
6	Abts+Quercetin	0,161	8,0000
7	Abts+Quercetin	0,212	6,0000
8	Abts+Quercetin	0,212	6,0000
9	Abts+Quercetin	0,212	6,0000
10	Abts+Quercetin	0,265	4,0000
11	Abts+Quercetin	0,265	4,0000
12	Abts+Quercetin	0,266	4,0000
13	Abts+Quercetin	0,354	2,0000
14	Abts+Quercetin	0,354	2,0000
15	Abts+Quercetin	0,354	2,0000

Lampiran 8. Hasil Pengukuran Antioksidan Sampel ABTS

No.	Nama	Abs(743,0)	Conc(mg/L)
1	Sampel Daun Bitti	0,040	50,000
2	Sampel Daun Bitti	0,040	50,000
3	Sampel Daun Bitti	0,040	50,000
4	Sampel Daun Bitti	0,156	45,000
5	Sampel Daun Bitti	0,156	45,000
6	Sampel Daun Bitti	0,156	45,000
7	Sampel Daun Bitti	0,240	40,000
8	Sampel Daun Bitti	0,240	40,000
9	Sampel Daun Bitti	0,240	40,000
10	Sampel Daun Bitti	0,279	35,000
11	Sampel Daun Bitti	0,279	35,000
12	Sampel Daun Bitti	0,279	35,000
13	Sampel Daun Bitti	0,346	30,000
14	Sampel Daun Bitti	0,346	30,000
15	Sampel Daun Bitti	0,347	30,000

Lampiran 9. Hasil Pengukuran Antioksidan pembanding DPPH

Perlakuan	Konsentrasi (PPM)	Replikasi	Abs 517,0nm
Blanko			0,000
DPPH			0,662
DPPH + Quarcetin	10	1	0,271
DPPH + Quarcetin		2	0,271
DPPH + Quarcetin		3	0,270
DPPH + Quarcetin	8	1	0,385
DPPH + Quarcetin		2	0,388
DPPH + Quarcetin		3	0,381
DPPH + Quarcetin	6	1	0,411
DPPH + Quarcetin		2	0,407
DPPH + Quarcetin		3	0,403
DPPH + Quarcetin	4	1	0,454
DPPH + Quarcetin		2	0,447
DPPH + Quarcetin		3	0,441
DPPH + Quarcetin	2	1	0,522
DPPH + Quarcetin		2	0,517
DPPH + Quarcetin		3	0,513

Lampiran 10. Hasil Pengukuran Antioksidan Sampel DPPH

Name (ppm)	Replikasi	Abs 517,0nm
Sampel 10	1	0,587
	2	0,586
	3	0,586
sampel 20	1	0,536
	2	0,535
	3	0,535
Sampel 30	1	0,504
	2	0,504
	3	0,504
Sampel 40	1	0,457
	2	0,457
	3	0,456
Sampel 50	1	0,399
	2	0,399
	3	0,399

Lampiran 11. Surat Izin Penelitian



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
 LEMBAGA PENELITIAN PENGEMBANGAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
 Jl. Sultan Alauddin No. 259 Telp. 866972 Fax (0411) 865508 Makassar 90221 e-mail: dp3m@unismuh.ac.id

Nomor : 6455/05/C.4-VIII/III/1446/2025
 Lamp : 1 (satu) Rangkap Proposal
 Hal : Permohonan Izin Penelitian

10 March 2025 M
 10 Ramadhan 1446

Kepada Yth,
 Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
 Universitas Muhammadiyah Makassar
 di -
 Makassar

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Berdasarkan surat Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar, nomor: 141/05/A.6-VIII/II/46/2025 tanggal 7 Maret 2025, menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : NURUL MEIRAH
 No. Stambuk : 10513 1106721
 Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
 Jurusan : Farmasi
 Pekerjaan : Mahasiswa

Bermaksud melaksanakan penelitian/pengumpulan data dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul :

"UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BITTI (VITEX COFASSUS) DENGAN METODE ABTS DAN DPPH"

Yang akan dilaksanakan dari tanggal 12 Maret 2025 s/d 12 Mei 2025.

Sehubungan dengan maksud di atas, kiranya Mahasiswa tersebut diberikan izin untuk melakukan penelitian sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan Jazakumullahu khaeran

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Ketua LP3M,



Dr. Muhsin Muhsin, M.Pd.
NBM 1127761

OKKEY

Lampiran 12. Surat Izin Penggunaan Laboratorium


MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
FAKULTAS KEDOKTERAN & ILMU KESEHATAN
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
Alamat: Jl. Sultan Alauddin No. 259 Tlp. 0411- 840 199, 866 972 Fax 0411 – 840 211 Makassar, Sulawesi Selatan

بسم الله الرحمن الرحيم

SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM
 No. 014 / 05/ A.5 - VII / VII / 47 / 2025

Kepala Laboratorium Prodi S1 Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar :

Nama	Nurul Meirah
NIM	105131106721
Program Studi	Sarjana S1 Farmasi
Fakultas	Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak etanol Daun Bitti (Vitex cofassus) Dengan Metode ABTS dan DPPH

Mahasiswa tersebut diatas bebas dari peminjaman fasilitas laboratorium pada Prodi S1 Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar :

Demikian surat keterangan ini dibuat, untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.
Makassar, 15 Juli 2025

Mengetahui
 Ketua Program Studi S1 Farmasi

apt. Sulaiman, S.Si., M.Kes.
 NBM : 564 547

Kepala Laboratorium,

Syafruddin, S.Si., M.Kes.
 NIDN. 0901047801

PUSHTAKAAN DAN PENERBITAN

Lampiran 13. Komite Etik Penelitian



Kemenkes
Poltekkes Makassar

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
☎ 08115566606
🌐 <https://portal.poltekkes-mks.ac.id>

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 1038/M/KEPK-PTKMS/V/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : Nurul Meirah
Principal in Investigator

Nama Institusi : Universitas Muhammadiyah Makassar
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title
"Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Biti (*Vitex cofassus*) Dengan Metode ABTS dan DPPH"
"Antioxidant Activity Test of Biti Leaf Ethanol Extract (*Vitex cofassus*) Using ABTS and DPPH Methods"

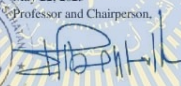
Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 22 Mei 2025 sampai dengan tanggal 22 Mei 2026.

Declaration of ethics applies during the period May 22, 2025 until May 22, 2026.




 May 22, 2025
 Professor and Chairperson,
H. Santi Simala, S.Si, M.Si, Apt
 Ketua KEPK Poltekkes Makassar

Lampiran 14. Surat Bebas Plagiasi

 **MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH**
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
UPT PERPUSTAKAAN DAN PENERBITAN
 Alamat kantor: Jl. Sultan Alauddin No.259 Makassar 90221 Tlp.(0411) 866972,881593, Fax.(0411) 865588

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

SURAT KETERANGAN BEBAS PLAGIAT

UPT Perpustakaan dan Penerbitan Universitas Muhammadiyah Makassar,
 Menerangkan bahwa mahasiswa yang tersebut namanya di bawah ini:

Nama : Nurul Meirah
 Nim : 105131106721
 Program Studi : Farmasi
 Dengan nilai:

No	Bab	Nilai	Ambang Batas
1	Bab 1	7%	10 %
2	Bab 2	10%	25 %
3	Bab 3	5%	10 %
4	Bab 4	10%	10 %
5	Bab 5	0%	5 %

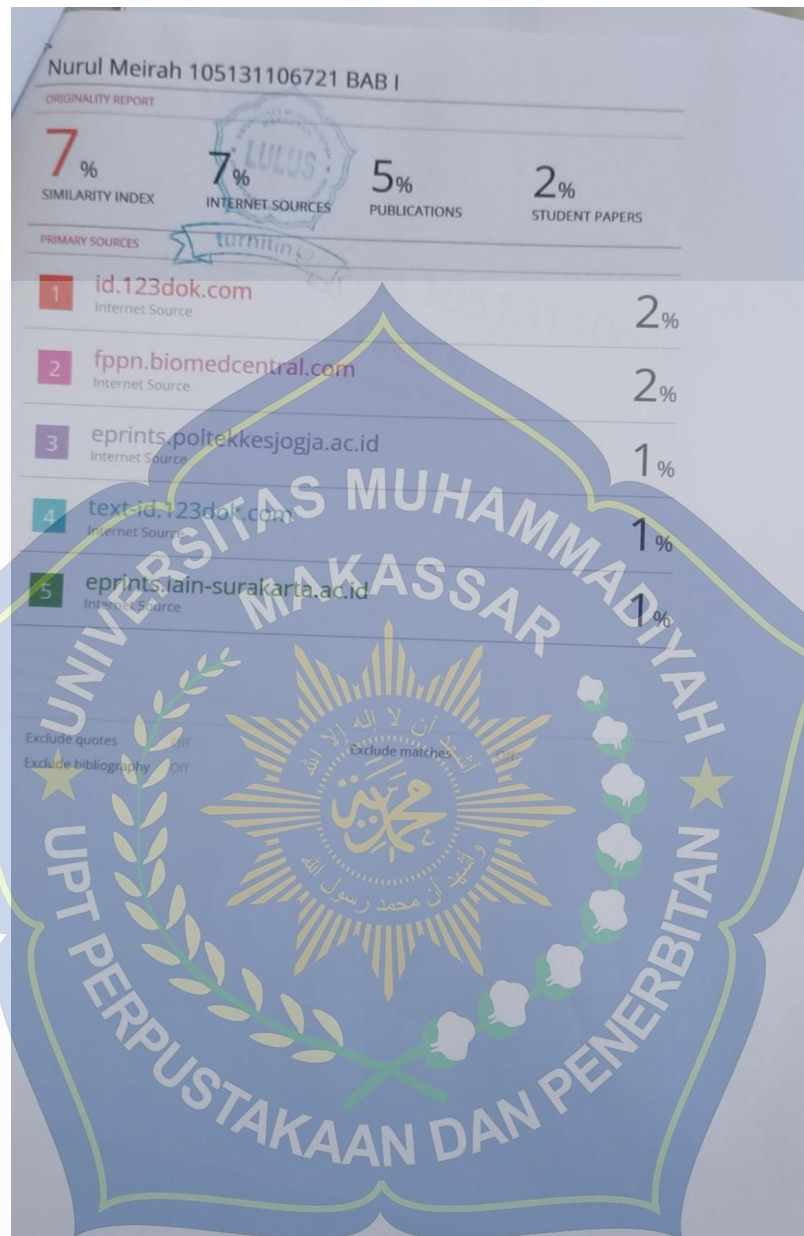
Dinyatakan telah lulus cek plagiat yang diadakan oleh UPT- Perpustakaan dan Penerbitan Universitas Muhammadiyah Makassar Menggunakan Aplikasi Turnitin.

Demikian surat keterangan ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dipergunakan seperlunya.

Makassar, 29 Juli 2025
 Mengetahui,
 Kepala UPT- Perpustakaan dan Penerbitan,


 Nurtinah S. Fani, M.I.P.
 NPM 964391

Jl. Sultan Alauddin no 259 makassar 90222
 Telepon (0411)866972,881 593,fax (0411)865 588
 Website: www.library.unismuh.ac.id
 E-mail : perpustakaan@unismuh.ac.id





Nurul Meirah 105131106721 BAB III

ORIGINALITY REPORT

5% SIMILARITY INDEX

3% INTERNET SOURCES

5% PUBLICATIONS

2% STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1 journal.uin-alaududin.ac.id 3%
Internet Source

2 Aminah Aminah, St Maryam, Muzakkir Baits, Ummi Kalsum. "PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) BERDASARKAN TEMPAT TUMBUH DENGAN METODE PEREDAMAN DPPH". Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2016. 2%
Publication

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches 2%

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH
MAKASSAR
UPT PERPUSTAKAAN DAN PENERBITAN

