

**KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
SITOTOKSIK EKSTRAK DIKLOROMETANA DAN 1-BUTANOL DAUN
TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius*
(Dennst.) Nicolson)**

SKRIPSI SARJANA KIMIA

Oleh:

RAFIL HAMDILLAH

BP: 1610412003



**PROGRAM SARJANA KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

**KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
SITOTOKSIK EKSTRAK DIKLOROMETANA DAN 1-BUTANOL DAUN
TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius*
(Dennst.) Nicolson)**

SKRIPSI SARJANA KIMIA

Oleh:

RAFIL HAMDILLAH

BP: 1610412003



Pembimbing 1: Bustanul Arifin, M.Si

Pembimbing 2: Prof. Dr. Mai Efdi

**PROGRAM SARJANA KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

**KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
SITOTOKSIK EKSTRAK DIKLOROMETANA DAN 1-BUTANOL DAUN
TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius*
(Dennst.) Nicolson)**

SKRIPSI SARJANA KIMIA

Oleh:

RAFIL HAMDILLAH

BP: 1610412003



Skripsi diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas

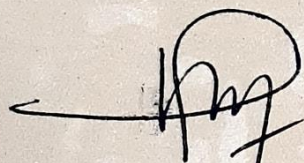
**PROGRAM SARJANA KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

“Kandungan Fenolik Total, Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol Daun Tumbuhan Bunga Bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)” skripsi oleh **Rafil Hamdillah (1610412003)** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

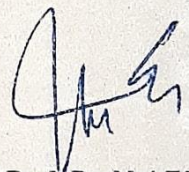
Disetujui Oleh:

Pembimbing I



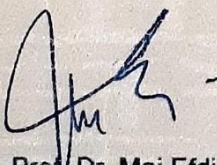
Bustanul Arifin M.Si
NIP: 196002281990031001

Pembimbing II



Prof. Dr. Mai Efdi
NIP: 197205301999031003

Mengetahui,
Ketua Jurusan

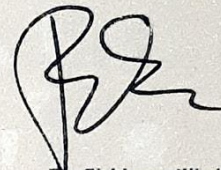


Prof. Dr. Mai Efdi
NIP: 197205301999031003

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Padang, 21 Juli 2022



Rafil Hamdillah

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”

(QS. Ar Ra’d: 11)

“Dan bahwasanya seseorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya”

(QS. An Najm: 39)

“barang siapa yang bersungguh-sungguh, dia pasti berhasil”

(Man Jadda Wa Jadda)

Alhamdulillah rabbi 'alamin Skripsi ini kupersembahkan sebagai wujud kasih sayang, bakti, terimakasih kepada kedua orang tauku ayah Rafli, ibu Fitri Hayati yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a, pengorbanan, dan dukungannya, serta adikku Fira Hamidah dan keluarga besar tercinta.

“Rafil Hamdillah”

INTISARI

KANDUNGAN FENOLIK TOTAL, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK DIKLOROMETANA DAN 1-BUTANOL DAUN TUMBUHAN BUNGA BANGKAI (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)

Oleh:

Rafil Hamdillah (1610412003)
Bustanul Arifin, M.Si*, Prof. Dr. Mai Efdi*
*Pembimbing

Daun tumbuhan bunga bangkai *Amorphophallus paeoniifolius* telah diekstrak dengan menggunakan pelarut diklorometana dan 1-butanol. Ekstrak diklorometana dari daun tumbuhan bunga bangkai diperoleh sebanyak 11,154 gram, dan ekstrak 1-butanol sebanyak 9,033 gram. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia senyawa yang terkandung dalam ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai serta mengetahui kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan dan sitotoksiknya. Penentuan kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu, sedangkan untuk aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), dan sitotoksik menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil identifikasi senyawa kimia menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana daun bunga bangkai mengandung fenolik dan steroid sedangkan pada ekstrak 1-butanol mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan steroid. Ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun bunga bangkai memiliki kandungan fenolik total sebesar 49,167 mg GAE/g dan 66,667 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak diklorometana dan 1-butanol dikategorikan bersifat lemah dengan nilai IC_{50} yang didapatkan sebesar 654,922 mg/L dan 354,038 mg/L. Hasil uji sitotoksik ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 115,345 mg/L dan 62,464 mg/L.

Kata Kunci: Daun tumbuhan bunga bangkai, *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson, Araceae, kandungan fenolik total, antioksidan, sitotoksik

ABSTRACT

TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITY TEST OF DICHLOROMETHANE AND 1-BUTANOL EXTRACTS OF CORPSE FLOWER PLANT LEAVES (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)

By:

Rafil Hamdillah (1610412003)

Bustanul Arifin, M.Si*, Prof. Dr. Mai Efdi*

*Supervisor

The leaves of *Amorphopallus paeoniifolius* were extracted using dichloromethane and 1-butanol as solvents. The dichloromethane extract from the leaves of the plant *Amorphopallus paeoniifolius* was obtained as much as 11,154 grams, and 1-butanol extract as much as 9,033 grams. This study aims to determine the phytochemical profile of the compounds contained in the dichloromethane and 1-butanol extracts from the leaves of the plant *Amorphopallus paeoniifolius* and to determine the total phenolic content, antioxidant activity, and cytotoxicity. Determination of total phenolic content by the Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazill) method and cytotoxic by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. The results of the identification of chemical compounds showed that the dichloromethane extract of *Amorphopallus paeoniifolius* leaves contained phenolics and steroids, while the 1-butanol extract contained flavonoid, phenolic, and steroid compounds. The dichloromethane and 1-butanol extracts of the leaves of *Amorphopallus paeoniifolius* had a total phenol content of 49,167 mg GAE/g and 66,667 mg GAE/g. The antioxidant activity of dichloromethane and 1-butanol extracts was weak with IC_{50} values of 654,922 mg/L and 354,038 mg/L. The results of the cytotoxic test of dichloromethane and 1-butanol extracts from the leaves of *Amorphopallus paeoniifolius* were toxic with LC_{50} values of 115,345 mg/L and 62,464 mg/L.

Keywords: Corpse flower plant leaves, *Amorphopallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson, Araceae, total phenolic content, antioxidant, cytotoxic

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah segala puji hanya milik Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Kandungan Fenolik Total, Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol Daun Tumbuhan Bunga Bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson)**”. Tidak lupa shalawat beriringan salam penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari alam jahiliyah menuju alam yang penuh ilmu pengetahuan seperti saat ini.

Skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program S-1 Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar semata-mata tidak hanya usaha penulis sendiri, melainkan bantuan tulus dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta yang telah mendidik dan membesarkan, serta memberi dukungan baik moral dan moril, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Bustanul Arifin, M.Si sebagai dosen pembimbing I, dan Bapak Prof. Dr. Mai Efdi sebagai Dosen pembimbing II yang telah memberikan ilmu, waktu, tenaga, dan pikiran, serta motivasi yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan semua perkuliahan dengan baik dan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Suryati, Ibu Dr. Yefrida, dan Ibu Dr. Diana Vanda Willia sebagai dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Hermansyah Aziz sebagai dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan ke penulis selama perkuliahan.
5. Bapak Prof. Dr. Mai Efdi sebagai ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Bapak Dr. Syukri sebagai Koordinator Pendidikan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.
6. Seluruh Bapak Ibuk dosen pengajar, tendik, dan civitas akademika Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.
7. Analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, bang Yudi dan analis Biokimia, bang Boy yang telah banyak memberikan bantuan, arahan serta semangat selama penelitian.

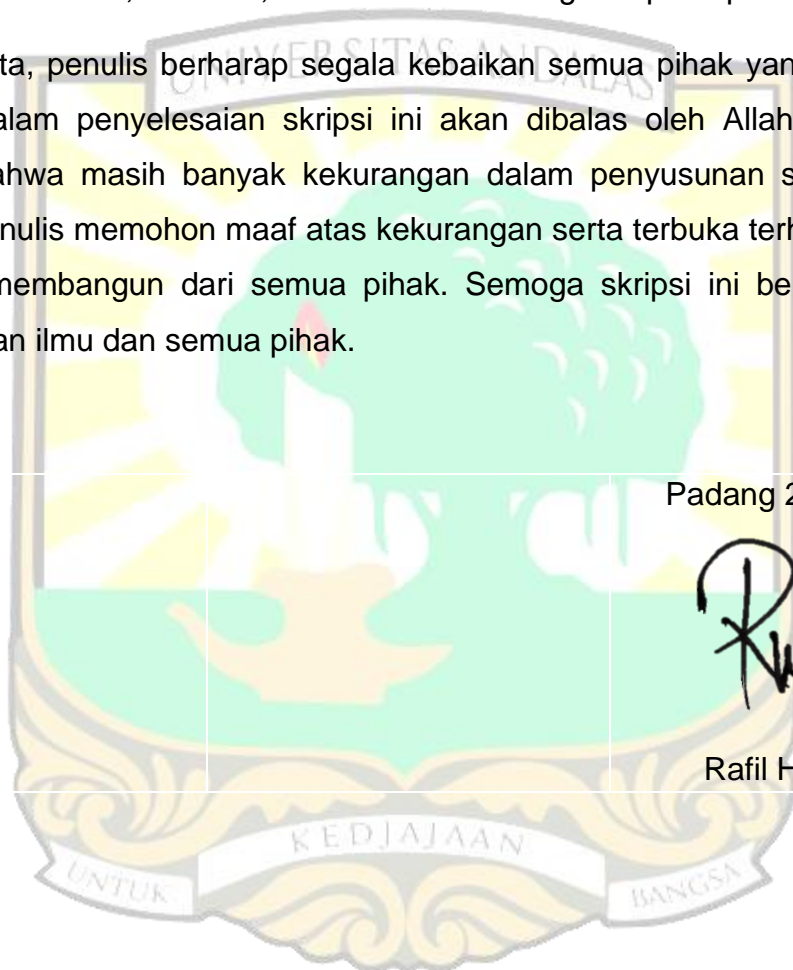
8. Saudara sepembimbing Desilia Putri Revani, Sandri Widia Oksadela dan Yuzia Siti Nurhamimah. Rekan-rekan Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan teman-teman Kimia angkatan 2016.
9. Sahabat-sahabat terbaik Muhammad Azwar, Aulia Afdhal Dinnilhaq, Dicky Agung Alfino, Ikhbal Gusri, Ilham Pratama, Syukri Hamdi, Ringga Febrian, dan Helviya Muhardini yang telah membantuan, memberi dukungan, dan motivasi kepada penulis.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu, memberikan do'a, motivasi, nasehat dan semangat kepada penulis.

Akhir kata, penulis berharap segala kebaikan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini akan dibalas oleh Allah SWT. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis memohon maaf atas kekurangan serta terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk pengembangan ilmu dan semua pihak.

Padang 21 Juli 2022



Rafil Hamdillah



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
UCAPAN TERIMAKASIH	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tumbuhan Bunga bangkai (<i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson)	3
2.2 Kandungan Kimia Tumbuhan Bunga bangkai	5
2.3 Fenolik Total.....	6
2.4 Antioksidan	6
2.5 Sitotoksik.....	8
BAB III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan.....	10
3.2.1 Alat.....	10
3.2.2 Bahan	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian	10
3.3.1 Identifikasi Tumbuhan Bunga Bangkai.....	10
3.3.2 Persiapan Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai.....	10
3.3.3 Uji Fitokimia Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai.....	11
3.3.4 Ekstraksi Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai	12
3.3.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total.....	12

3.3.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan.....	13
3.3.7 Uji Sitotoksik	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Identifikasi Tumbuhan Bunga Bangkai	16
4.2 Preparasi Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai	16
4.3 Uji Metabolit Sekunder Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol	16
4.4 Ekstraksi Daun Tumbuhan Bunga Bangkai	17
4.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total	18
4.6 Uji Aktivitas Antioksidan	19
4.7 Uji Aktivitas Sitotoksik.....	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Bunga Bangkai	3
Gambar 2.2 Senyawa Golongan Flavonoid.....	5
Gambar 2.3 Senyawa Golongan Steroid.....	6
Gambar 2.4 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan	7
Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat	18
Gambar 4.2 Kurva Hubungan Konsentrasi dengan Persen Inhibisi	20
Gambar 4.3 Kurva Hubungan Log Konsentrasi dengan Nilai Probit Uji Sitotoksik	24



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Intensitas Antioksidan.....	8
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia.....	16
Tabel 4.2 Persentase Randemen Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol.....	17
Tabel 4.3 Data Kandungan Fenolik Total Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol.....	19
Tabel 4.4 Nilai Konsentrasi IC ₅₀ dari Ekstrak dan Asam Askorbat	21
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Uji Sitotoksik Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol....	23
Tabel 4.6 Nilai Konsentrasi LC ₅₀ dari Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol	25



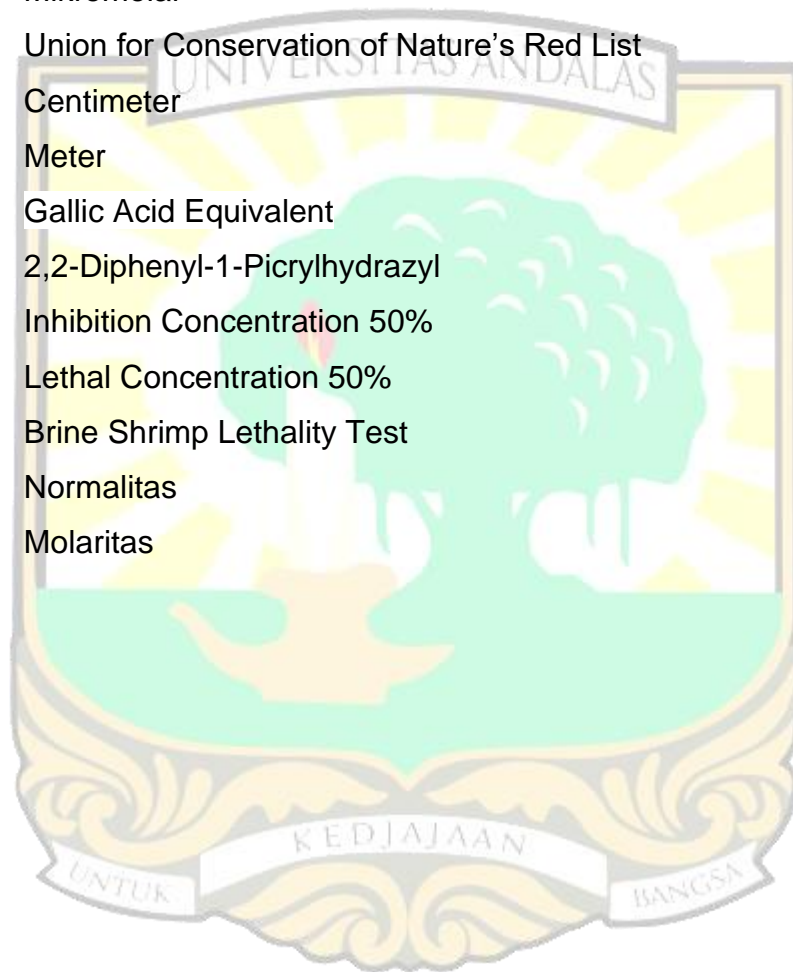
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Sampel	32
Lampiran 2. Preparsi Sampel.....	33
Lampiran 3 Uji Fitokimia Sampel.....	34
Lampiran 4. Ekstraksi Sampel.....	37
Lampiran 5. Uji Kandungan Fenolik Total	38
Lampiran 6. Uji Aktivitas Antioksidan	40
Lampiran 7. Uji Aktivitas Sitotoksik.....	42
Lampiran 8. Hasil Uji Fitokimia Sampel.....	44
Lampiran 9. Persentase Randemen Ekstrak Sampel.....	45
Lampiran 10. Perhitungan Kandungan Fenolik Total	46
Lampiran 11. Perhitungan Aktivitas Antioksidan	49
Lampiran 12. Perhitungan Aktivitas Sitotoksik.....	55



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan	Nama	Pemakaian pertama kali pada halaman
WHO	World Health Organization	1
ATP	Adenosin Trifosfat	1
ROS	Reaktif Oksigen Spesies	1
RNS	Reaktif Nitrogen Spesies	1
μM	Mikromolar	1
IUCN	Union for Conservation of Nature's Red List	4
Cm	Centimeter	4
M	Meter	4
GAE	Gallic Acid Equivalent	7
DPPH	2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl	7
IC ₅₀	Inhibition Concentration 50%	8
LC ₅₀	Lethal Concentration 50%	9
BSLT	Brine Shrimp Lethality Test	9
N	Normalitas	10
M	Molaritas	10



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit degeneratif yang sangat berbahaya bagi tubuh manusia. Data *Global Cancer Observatory* dari *World Health Organization* (WHO) tahun 2020 terdapat sebanyak 396.914 orang yang menderita penyakit kanker di Indonesia. Dari data tersebut diketahui angka kematian yang disebabkan oleh kanker sebanyak 234.511 kasus. Dengan jumlah kasus umum lima tahun terakhir 946.088 kasus. Dalam hal ini penyakit kanker dikategorikan sebagai penyakit yang perlu diprioritaskan dalam penyembuhannya¹.

Penyakit degeneratif disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk melalui proses oksidasi maupun radiasi yang menghasilkan senyawa berbahaya bagi tubuh yang dapat merusak sel sehingga mempengaruhi fungsi organ. Radikal bebas juga merupakan hasil samping dalam proses pembentukan energi ATP. Radikal bebas merupakan suatu molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada kulit teluarnya, bersifat tidak stabil dan reaktif. Adapun contoh radikal bebas yang ada pada tubuh berupa ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*), dimana kedua molekul ini pada konsentrasi rendah (0,001 - 0,7 μM) akan memberi dampak positif pada respons seluler dan kekebalan tubuh. Sedangkan pada konsentrasi tinggi (20-200 μM) molekul ini akan mengakibatkan stres oksidatif, dimana proses ini dapat merusak struktur sel². Stres oksidatif inilah yang menjadi asal dari perkembangan penyakit kronis dan degeneratif pada manusia seperti kanker, penuaan dini, gangguan autoimun, penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif³.

Dalam mengatasi penyakit degeneratif, seperti kanker dapat dicegah menggunakan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas terhadap sel-sel⁴. Dalam menghambat jalannya reaksi oksidasi antioksidan melalui beberapa cara, yaitu inhibisi dengan enzim, mekanisme donor proton, dan *radical scavenger*. Senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan bertindak sebagai *radical scavenger* membantu mengkonversikan radikal bebas menjadi tidak reaktif. Pada tumbuhan antioksidan berupa karotenoid, vitamin, senyawa flavonoid, dan senyawa fenol⁵.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah *Amorphophallus paeoniifolius*. Tumbuhan ini termasuk kedalam famili araceae, bunga dari tumbuhan ini busuk seperti bangkai sehingga disebut juga tumbuhan bunga bangkai. Tumbuhan bunga tersebar di beberapa negara di Asia seperti Indonesia,

Malaysia, Bangladesh, India, Filipina, dan China⁶. Di Indonesia sendiri dapat ditemukan di Pulau Sumatera, Jawa, Bali, dan Sulawesi⁷. Beberapa studi terhadap tumbuhan ini telah dilakukan. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH ekstrak metanol umbi tumbuhan bunga bangkai memiliki IC₅₀ 52,4 µg/mL dan ekstrak heksana 470,5 µg/mL⁸. Pengujian sitotoksik menggunakan metode BSLT ekstrak etanol umbi tumbuhan bunga bangkai memiliki LC₅₀ 7.66 µg/ml⁹. Hasil studi lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi tumbuhan bunga bangkai memiliki aktivitas antikanker signifikan terhadap terhadap hewan uji, sehingga direkomendasikan untuk dapat dipakai sebagai obat atau campuran obat antikanker¹⁰.

Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya bahwa pada bagian umbi tumbuhan bunga bangkai memiliki potensi sebagai antioksidan dan aktivitas sitotoksik, namun belum adanya atau sedikit penelitian terhadap bagian daunnya. Maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi kemudian uji profil fitokimia daun tumbuhan bunga bangkai, serta penentuan kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, dan aktivitas sitotoksik terhadap ekstrak diklorometana dan 1-butanol pada daun tumbuhan bunga bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa saja kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak diklorometana dan ekstrak 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai?
2. Berapa nilai fenolik total, aktivitas antioksidan, dan sitotoksik dari ekstrak diklorometana dan ekstrak 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak diklorometana dan ekstrak 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai.
2. Menentukan nilai fenolik total, aktivitas antioksidan, dan sitotoksik dari ekstrak diklorometana dan ekstrak 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai kandungan metabolit sekunder serta nilai fenolik total, aktivitas antioksidan, dan sitotoksik dari ekstrak diklorometana dan ekstrak 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai.

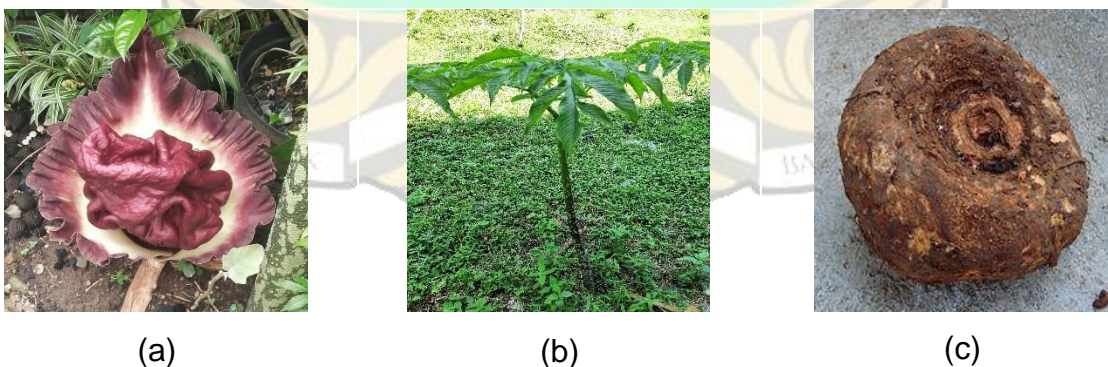
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Bunga Bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius*)

Amorphophallus paeoniifolius berasal dari bahasa Yunani Kuno yaitu “*Amorphous*” yang berarti “cacat atau tanpa bentuk” dan “*phallos*” yang berarti “penis”. *Amorphophallus paeoniifolius* atau sering dikenal sebagai tumbuhan bunga bangkai dan digolongkan kedalam kelompok tanaman talas. Tercatat dalam sejarah masyarakat Indonesia umbi tumbuhan bunga bangkai pernah dijadikan sebagai sumber cadangan pangan oleh masyarakat Indonesia pada masa penjajahan, serta umbi tumbuhan ini juga memiliki manfaat menurunkan kadar gula dan kolesterol¹¹. Adapun klasifikasi dari tumbuhan bunga bangkai adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae (tumbuh- tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Arales
Famili	: Araceae
Spesies	: <i>Amorphophallus paeoniifolius</i>
Binomial name	: <i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson ¹² .

Jenis bunga bangkai ini masih berkerabat dekat dengan bunga bangkai raksasa (*A. tinum*), iles-iles, dan porang. Tanaman ini termasuk tanaman liar dengan status konservasi *least concern* (beresiko rendah) berdasarkan data dari *Internasional Union for Conservation of Nature's Red List* (IUCN)¹³.



Gambar 2.1 Tumbuhan bunga bangkai

(a) Bunga, (b) batang dan daun, (c) umbi

Bunga bangkai merupakan tumbuhan berumbi dengan warna kuning kecoklatan, batang semu, terdapat bercak putih menyerupai panu, batang sejati dari tanaman ini berada pada bagian bawah berupa umbi yang merupakan transformasi dari batang atau disebut umbi batang (*tuber caulogenum*). Tanaman ini memiliki tipe daun lengkap

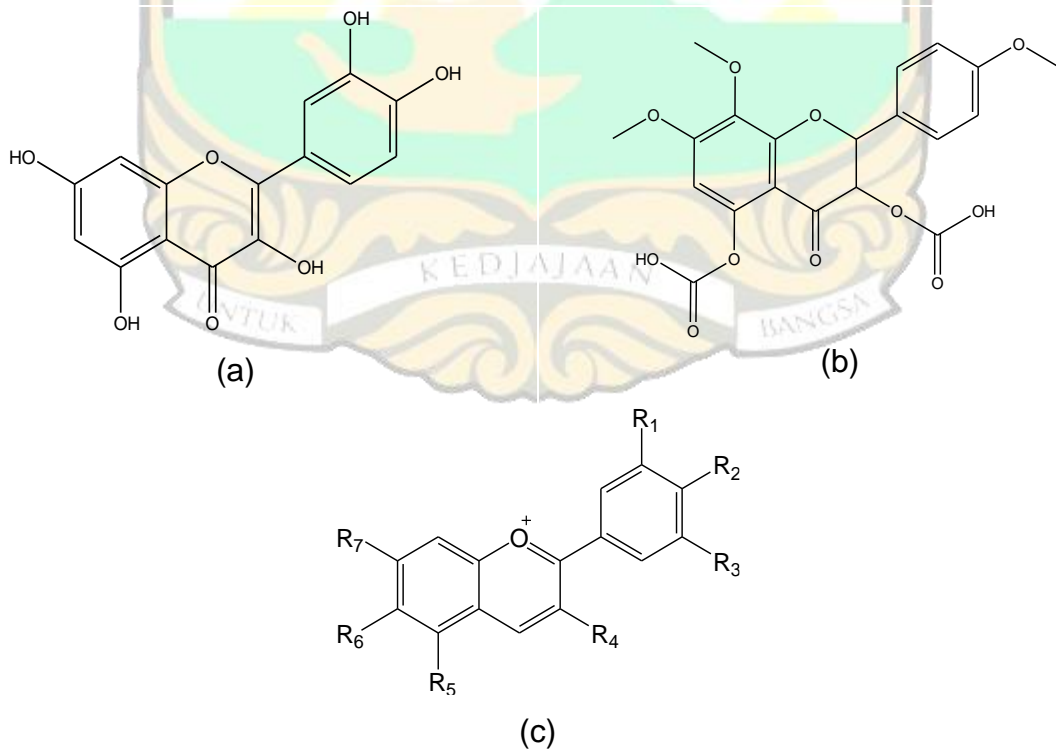
karena memiliki *petiol*, *vagina*, dan *lamina*. *Petiol* memiliki diameter 3,3 – 10 cm, tangkai daun kekar dengan panjang 60 – 90 cm, serta anak daun dengan panjang 5 – 12,5 cm. Daun bunga bangkai berwarna hijau muda sampai hijau tua, permukaan daun licin (*laevis*), dan terdapat sayap (*alae*) dibagian daun. Bentuk daun elips atau jorong dengan ujung daun (*apex*) meruncing (*acuminatus*). Jumlah anak daun 6 – 8. Tinggi total tumbuhan ini 1,5 – 2 m. Tumbuhan ini memiliki bunga berbentuk lonjong dan berwarna merah, tipe bunga majemuk (*inflorescentia*) bertipe tongkol (*spadix*), memiliki susunan bunga yang terdiri dari tangkai bunga (*pedunculus*), selindung bunga (*spatha*) berwarna ungu atau merah lembayung. Putik (*pistillum*) yang berada pada bagian bawah *spadix* dan benang sari (*stamen*) berada dibagian atasnya, tidak terdapat mahkota maupun kelopak pada bagian bunga ini. Pada bunga juga terdapat daun penumpu (*stipula*) berwarna hijau dengan totol putih, yang berfungsi melindungi bunga pada waktu kuncup. Bunga menghasilkan bau busuk yang berfungsi menarik serangga untuk membantu penyerbukannya. Bunga ini berumah satu (*monoceus*) dimana bunga jantan dan betina terdapat dalam satu individu dan memiliki tinggi bunga 30 – 42 cm. Tipe buah pada bunga bangkai yaitu buah sejati majemuk berdaging. Buah berbentuk oval dengan panjang 1 – 1,5 cm berwarna hijau sampai orange pada waktu belum masak, setelah masak berwarna merah. Dalam satu tongkol terdapat 400 – 600 buah dimana dalam satu buah terdapat 1 – 2 biji dan umur 7 – 8 bulan. Tipe akar pada tumbuhan ini yaitu serabut yang mengarah kesamping, berwarna putih kekuningan dimana akar berfungsi menyerap zat – zat hara dan air dari dalam tanah¹⁴.

Seperti kebanyakan tumbuhan *Amorphophallus* lainnya, jenis tumbuhan ini mempunyai dua fase pertumbuhan yang muncul secara bergantian, yaitu fase vegetatif dan fase generatif. Pada fase vegetatif tumbuh daun dan batang semunya, setelah beberapa waktu organ vegetatif tersebut layu dan umbinya menjadi dorman. Walaupun saat seluruh daunnya telah layu, tanaman ini masih memiliki cadangan makanan dalam umbi dan ketika kondisi lingkungan untuk pertumbuhan mendukung, maka tanaman ini akan menumbuhkan bunga majemuk. Bunga ini mengeluarkan aroma busuk seperti bangkai yang menarik kehadiran lalat atau serangga penyerbuk lainnya untuk membantu penyerbukan. Fase ini disebut fase generatif, apabila pada fase ini terjadi proses fertilisasi, maka buah akan terbentuk¹⁵. Tanaman bunga bangkai tumbuh liar di hutan dan lereng aliran sungai atau dibudidayakan, dengan kondisi tanah bertekstur gabur, liat berpasir dan kaya akan unsur hara dan mineral serta memiliki pH tanah 6 – 7,5¹⁶.

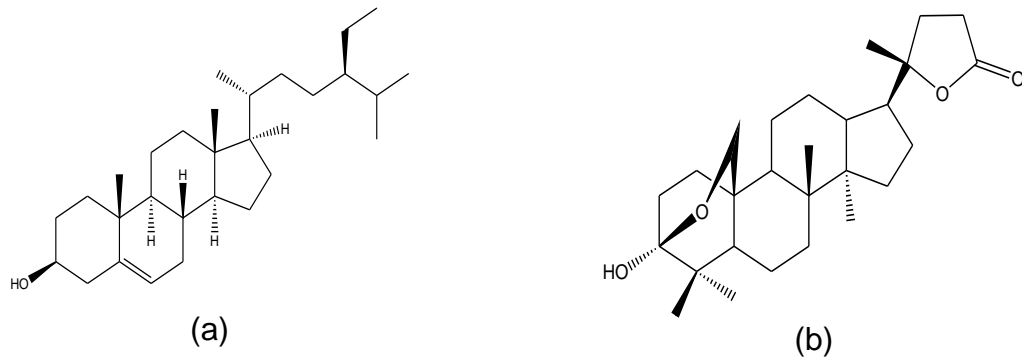
2.2 Kandungan Kimia Tumbuhan Bunga Bangkai

Untuk mengetahui kandungannya, tumbuhan bunga bangkai diekstraksi dan diisolasi menggunakan berbagai pelarut sehingga dapat diketahui fungsi dan kegunaannya. Umbi bunga bangkai mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, steroid dan triterpenoid^{17,18}. Senyawa hasil isolasi dari ekstrak umbi tumbuhan bunga bangkai telah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya berupa kuersetin, amblyone, beta sitosterol, salviasperanol, dan 3,5 diasetiltambulin. kuersetin merupakan senyawa golongan flavonoid diisolasi dari ekstrak etil asetat umbi bunga bangkai yang memiliki aktivitas antioksidan¹⁹. Amblyone dari ekstrak etanol dan petroleum eter memiliki aktivitas antibakteri, antijamur dan sitotoksik. Beta sitosterol dari ekstrak etanol dan air memiliki aktivitas antidabetes. Salviasperanol dari ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri, antijamur dan sitotoksik. 3,5 diasetiltambulin dari ekstrak petroleum eter memiliki aktivitas antibakteri, antijamur, dan sitotoksik¹².

Pada uji warna dengan menggunakan kromatografi kertas daun bunga bangkai mengandung pigmen warna klorofil sedangkan bunganya mengandung pigmen warna karotenoid, antosianin, dan klorofil¹⁴. Tumbuhan bunga bangkai juga mengandung kalsium oksalat baik pada umbi, batang maupun daun dimana jika terkena kulit akan terjadi reaksi gatal.



Gambar 2.2 Senyawa golongan flavonoid
(a) kuersetin; (b) 3,5 diasetiltambulin; dan (c) antosianin



Gambar 2.3 Senyawa golongan steroid
(a) amblyone; dan (b) beta sitosterol

2.3 Fenolik Total

Senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksil yang terkait pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas. Kemampuannya mengubah radikal bebas menjadi stabil pada reaksi oksidasi menyebabkan senyawa fenolik sangat berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa fenolik alami umumnya berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester, atau glikosida, antara lain flavonoid, tanin, tokoferol, kumarin, lignin, turunan asam sinamat, dan asam organik polifungsional²⁰.

Kandungan fenolik total dapat ditentukan secara spektrofotometri dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode ini adalah oksidasi gugus hidroksil pada senyawa fenolik. Senyawa fenolik dalam sampel akan mereduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten yang berwarna biru. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk. Lautan standar yang pada metode ini adalah asam galat, karena asam galat merupakan senyawa golongan fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat Untuk analisis nilai serapan sampel menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Nilai kandungan fenolik total dalam sampel tumbuhan dinyatakan dalam GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 1 gram sampel²¹.

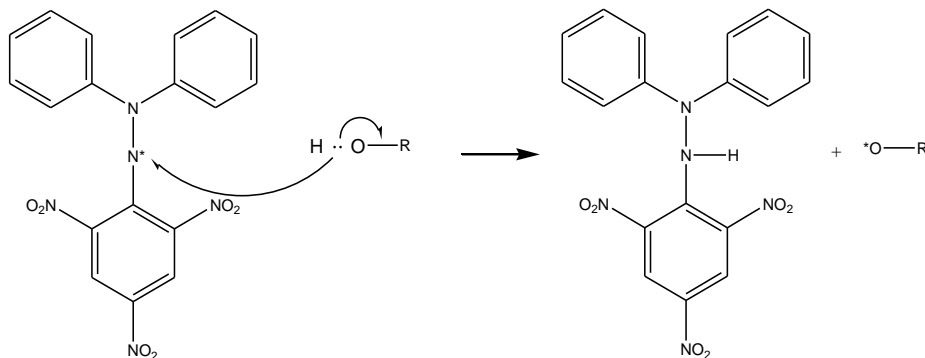
2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat menyumbangkan elektronnya pada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, kardiovaskuler,

karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak²².

Antioksidan dikategorikan berupa antioksidan endogen, dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan jenis antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia. Enzim glutathion peroksida, katalase merupakan contoh dari antioksidan endogen. Glutathion, merupakan antioksidan penting yang larut dalam air, senyawa ini disintesis dari asam amino, glisin, glutamat, dan sistein. Glutathion bekerja langsung dalam mengubah ROS (*Reactive Oxygen Species*) menjadi tidak reaktif, dan juga memainkan peran utama dalam metabolisme *xenobiotic*. Ketika seorang individu terpapar *xenobiotic* tingkat tinggi, maka akan lebih banyak glutathion yang digunakan untuk konjugasi (langkah dalam proses detoksifikasi tubuh). Glutathion dan vitamin C bekerja secara interaktif untuk mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan eksogen dapat berasal dari sumber alami seperti vitamin, flavonoid, fenolik, antosianin, dan beberapa mineral tetapi juga dapat berupa senyawa sintetik seperti butil hidroksi anisol, butil hidroksi toluene, asam galat, dan lainnya²³.

Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Prinsip metode ini adalah donor atom hidrogen dari senyawa antioksidan terhadap DPPH. Radikal DPPH mengalami reduksi sehingga menjadi DPPH-H ditandai dengan perubahan warna larutan²⁴. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis, dan diplotkan terhadap konsentrasi. Metode ini bertujuan untuk mengetahui parameter konsentrasi ekuivalen yang memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}) terhadap radikal bebas DPPH²⁵. Reaksi reduksi DPPH dapat dilihat pada reaksi berikut.



Gambar 2.4 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

Nilai aktivitas antioksidan berupa IC_{50} dinyatakan dalam mg/L dengan tingkatan kekuatan antioksidan terdiri dari empat bagian yaitu sangat kuat, kuat, sedang, dan lemah²⁶. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Table 2.1 Intensitas Antioksidan

Intensitas	IC_{50} (mg/L)
Sangat kuat	<50
Kuat	50 – 100
Sedang	100 – 250
Lemah	>250

2.5 Sitotoksik

Sitotoksik berasal dari kata “sito” yang berarti sel, dan “toksik” yang berarti racun. Senyawa sitotoksik merupakan senyawa yang dapat merusak sel hidup, dengan sifat ini senyawa sitotoksik memiliki potensi obat antikanker yang dapat membunuh sel kanker atau pun menghambat pertumbuhan sel kanker²⁷. Banyak senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada bahan alam mengandung zat aktif yang bersifat toksik terhadap sel-sel tertentu, atau dapat dikatakan memiliki aktivitas biologis sebagai antikanker²⁸. Dalam penerapannya uji sitotoksik digunakan untuk mengukur tingkat toksisitas suatu senyawa secara *in vitro* dengan kultur sel. Prinsip dari pengujian tersebut adalah dengan menetapkan aktivitas biologis untuk menunjukan kurva dosis respon yang mendeskripsikan hubungan linier terhadap jumlah sel²⁹. Uji sitotoksik juga dapat menunjukan gambaran konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel untuk mampu bertahan hidup³⁰.

Salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik suatu senyawa adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode yang sering digunakan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik suatu senyawa. Kelebihan metode ini adalah cukup praktis, murah, sederhana dan cepat tapi tidak mengesampingkan kekuatannya untuk skrining awal tanaman berpotensi antikanker. Metode ini digunakan untuk melihat tingkat jumlah kematian larva udang *Artemia salina* yang disebabkan oleh ekstrak uji. *Artemia salina* merupakan udang primitif yang keberadaannya sangat penting dalam perputaran energi rantai makanan ekosistem laut. *Artemia salina* ini juga biasa digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan³¹. Larva udang *Artemia salina* yang telah berumur 48 jam memiliki morfologi berupa mulut dan saluran pencernaan, sehingga larva udang ini sensitif terhadap suatu zat yang dimasukkan dan sudah dapat mengabsorpsi ekstrak. Selain

itu pada fase ini larva udang berada pada fase aktif untuk pembelahan mitosis yang identik dengan sel kanker. Oleh sebab itu larva udang *Artemia salina* yang berumur 48 jam ini dapat digunakan sebagai hewan percobaan. Hasil dari pengukuran ini dihitung sebagai nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*). Nilai ini memperlihatkan jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sebesar 50% setelah masa inkubasi selama 24 jam. Senyawa dengan nilai LC_{50} kecil dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ dapat dianggap memiliki sifat sitotoksik³².



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Januari 2020 sampai Februari 2021. Proses ekstraksi, uji fitokimia dan uji sitotoksik dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas. Kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas. Identifikasi tumbuhan bunga bangkai dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan adalah grinder, maserator, *rotary evaporator*, lampu UV 356 nm, kertas saring, plat KLT, aluminium foil, neraca analitik, spektrofotometer, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi yaitu pelarut heksana, diklorometana, etil asetat, dan 1-butanol. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu akuades, kloroform, HCl p.a, bubuk magnesium, larutan FeCl_3 5%, pereaksi Liberman-Burchard, larutan kloroform-amonia 0,05M, pereaksi Mayer, H_2SO_4 2N, dan NaOH 1%. Bahan yang digunakan untuk uji kandungan fenolik total yaitu metanol, natrium karbonat 20% dan asam galat. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu DPPH dan asam askorbat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$). Bahan yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu larva udang *Artemia salina*, air laut dan dimetil sulfoksida (DMSO).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Identifikasi Tumbuhan Bunga Bangkai

Tumbuhan bunga bangkai diperoleh dari kota Padang, Provinsi Sumatera Barat. Bagian daun dan batang dipotong dan dijadikan spesimen untuk diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

3.3.2 Persiapan Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Sampel daun dirajang halus kemudian dikering pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah sampel tersebut kering, dihaluskan menggunakan grinder sehingga menjadi bubuk dan ditimbang. Sampel yang telah berupa bubuk digunakan untuk proses ekstraksi. Sekema kerja persiapan sampel dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.3 Uji Fitokimia Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun tumbuhan bunga bangkai, meliputi pemeriksaan senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, steroid, kumarin dan alkaloid. senyawa kumarin, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, dan steroid. Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 3, sedangkan prosedur kerja uji fitokimia sebagai berikut.

3.3.3.1 Uji Flavonoid, Fenolik, Saponin, Triterpenoid, dan Steroid

Sebanyak 2 gram daun tumbuhan bunga bangkai dipotong halus, dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu diekstrak dengan 5 mL metanol, dan dipanaskan diatas penangas kemudian disaring. Filtrat dimasukan kedalam corong pisah lalu ditambahkan air:kloroform (1:1) masing-masing sebanyak 3 mL, selanjutnya dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air (bagian atas) untuk pemeriksaan flavonoid, fenolik, dan saponin sedangkan lapisan kloroform (bagian bawah) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid³³.

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat dan sedikit serbuk Mg, jika terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid³⁴.

b. Uji Fenolik

Sebanyak 1 mL lapisan air dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan FeCl_3 5% beberapa tetes, jika terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau menandakan positif mengandung senyawa fenolik³³.

c. Uji Saponin

Sebanyak 1 mL lapisan air dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian dikocok. Jika terbentuk busa yang stabil dan tidak hilang (\pm 5 menit), lalu ditambah beberapa tetes HCl kemudian dikocok kembali, busa tidak hilang menandakan positif mengandung senyawa saponin³³.

d. Uji Triterpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform dipipet dan diteteskan pada dua lubang plat tetes lalu dibiarkan kering. Kemudian ditambahkan asam sulfat pekat dan anhidrida asetat (Liebermann Burchard). Terbentuknya cincin berwarna merah atau ungu menandakan positif mengandung senyawa triterpenoid, dan apabila terbentuk cincin warna hijau atau hijau biru menandakan positif mengandung senyawa steroid³³.

3.3.3.2 Uji Alkaloid

Sebanyak 2 gram daun tumbuhan bunga bangkai dirajang dan digerus pada lumpang porselen. Tambah 10 mL kloroform-ammonia 0,05 M diaduk kemudian disaring. Filtrat diambil kemudian ditambahkan ditambahkan 2 mL asam sulfat 2 N dan dikocok, biarkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam sulfat (bagian atas) sebanyak 1 mL diambil dan ditambahkan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid³³.

3.3.3.3 Uji Kumarin

Sebanyak 2 gram daun tumbuhan bunga bangkai dirajang dan digerus lalu diekstrak dengan pelarut metanol pada lumpang porselen. Hasil ekstrak ditotol pada batas bawah plat KLT menggunakan pipa kapiler kemudian dielusi pada camber yang sudah berisi 10 mL etil asetat. Noda yang dihasilkan dimonitor dengan lampu UV panjang gelombang 365 nm. Terlihatnya warna biru-ungu berfluorisensi akan semakin terang setelah disemprot dengan NaOH menandakan positif mengandung senyawa kumarin³³.

3.3.4 Ekstraksi Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Sampel bubuk daun tumbuhan bunga bangkai (450 gram) diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut heksana, diklorometana, etil asetat, dan 1-butanol dengan polaritas relatif (0,009; 0,228; 0,309; 0,389)³⁵. Sampel dimasukkan kedalam botol berwarna gelap, kemudian direndam dengan heksana selama 2-3 hari, sambil dikocok sesekali untuk menyempurnakan proses ekstraksi, kemudian disaring. Meserasi dilakukan beberapa kali hingga terjadinya perubahan warna filtrat yang signifikan dari maserasi pertama. Filtrat kemudian diuapkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat heksana. Ampas hasil dari maserasi heksana kemudian dimaserasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut diklorometana, sehingga diperoleh ekstrak pekat diklorometana. Cara ekstraksi yang sama juga dilakukan dengan pelarut etil asetat dan yang terakhir 1-butanol sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat, dan ekstrak pekat 1-butanol³⁶. Skema kerja ekstraksi daun tumbuhan bunga bangkai dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan terhadap ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai dengan metode Folin-Ciocalteu²¹. Skema kerja penentuan kandungan fenolik total dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.3.5.1 Pembuatan Larutan Asam Galat Sebagai Larutan Standar

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10 mg asam galat dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan metanol, sehingga didapatkan larutan induk konsentrasi 200 mg/L. Kemudian dibuat variasi konsentrasi 10; 40; 80; 120; dan 160 mg/L dalam labu 10 mL. Larutan standar berbagai konsentrasi diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama 2 jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban yang didapatkan, dibuat kurva kalibrasi antara absorban dengan konsentrasi asam galat.

3.3.5.2 Pembuatan Larutan Uji

Masing-masing ekstrak (ekstrak diklorometana dan 1-butanol) ditimbang 100 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan metanol, sehingga didapatkan larutan berkonsentrasi 1000 mg/L. Kemudian diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu serta didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL natrium karbonat 20% dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama 2 jam. Kemudian diukur absorban pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total masing-masing larutan uji ditentukan dari persamaan regresi kurva larutan standar. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam *Galic Acid Equivalent* (GAE).

3.3.6 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai dilakukan dengan menggunakan pereaksi DPPH²⁵. Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.3.6.1 Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

3.3.6.2 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak diklorometana dan 1-butanol masing-masing ditimbang 100 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 1000 mg/L. Selanjutnya larutan induk ekstrak

diklorometana diencerkan dengan variasi konsentrasi yaitu 900; 800; 700; 600; 500 mg/L. Sedangkan larutan induk ekstrak 1-butanol diencerkan dengan variasi konsentrasi 700; 600; 500; 400; 300; dan 200 mg/L dalam labu 10 mL.

3.3.6.3 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Asam askorbat ditimbang 5 mg dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan 100 mg/L, lalu diambil 5 mL dan dilarutkan dalam labu 50 mL sehingga didapatkan larutan induk konsentrasi 10 mg/L. kemudian larutan induk 10 mg/L diencerkan kembali dengan variasi konsentrasi yaitu 9; 8; 7; 6; 5; 4 mg/L dalam labu 10 mL.

3.3.6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara menambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam 2 mL masing-masing larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Sebagai kontrol negatif pada pengujian ini adalah 2 mL metanol ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Lakukan pengerjaan ditempat yang gelap dan tidak terkena cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansi dari masing-masing konsentrasi larutan uji dan kontrol pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorbansi yang didapatkan, dihitung %inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100$$

Keterangan:

A_c = nilai absorbansi Kontrol DPPH

A = nilai absorbansi sampel.

Setelah didapatkan nilai %inhibisi dari perhitungan, dapat ditentukan nilai IC_{50} dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dengan menggunakan persamaan regresi yang didapatkan.

3.3.7 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik pada penelitian ini dilakukan terhadap ekstrak diklorometana dan 1-butanol dengan metode BSLT³². Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.3.7.1 Pembenihan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Air laut diletakkan di dalam *container* gelas kecil yang terdiri dari dua bagian yaitu gelap dan terang serta dilengkapi dengan lampu, penutup dan *aerator*. Telur udang dimasukkan ke dalam bagian gelap container dan dibiarkan selama 48 jam. Setelah 48 jam, maka telur akan menetas menjadi larva (naupili) dan kemudian akan bergerak

ke bagian terang *container*. Larva inilah yang akan digunakan sebagai hewan percobaan pada uji sitotoksik pada penelitian ini.

3.3.7.2 Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 100 mg ekstrak diklorometana dan 10 mg ekstrak 1-butanol ditimbang dan dilarutkan dalam labu 100 mL sampai tanda batas dengan metanol, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk ekstrak diklorometana 1000 mg/L dan larutan induk ekstrak 1-butanol 100 mg/L. larutan induk ekstrak diklorometana dan 1-butanol diencerkan secara bertingkat. Ekstrak diklorometana diencerkan dengan variasi konsentrasi (500; 250; 125; dan 62,5) mg/L, sedangkan ekstrak 1-butanol diencerkan dengan variasi konsentrasi (50; 25; 12,5; dan 6,25) mg/L.

3.3.7.3 Pengujian Sitotoksik

Kedalam setiap larutan uji diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam botol vial, lalu diuapkan pelarut pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 50 μ L larutan DMSO sampai semuanya larut dengan vortex. Selanjutnya ditambahkan 3 mL air laut terhadap masing-masing larutan uji. Lalu ditambahkan masing-masingnya sebanyak 10 ekor larva udang kedalam setiap larutan uji. Kemudian cukupkan volumenya sampai 5 mL dengan air laut. Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap larva udang didalam larutan uji dengan cara menghitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam³². Hasil pengamatan dimasukkan ke dalam tabel probit dan diolah untuk mendapatkan nilai LC₅₀.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Tumbuhan Bunga Bangkai

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas melalui surat Nomor 025/K-ID/ANDA/I/2020 diketahui bahwa sampel yang digunakan termasuk kedalam famili Araceae, spesies *Amorphophallus paeoniifolius*. Hasil identifikasi ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.2 Preparasi Sampel Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Sampel segar daun tumbuhan bunga bangkai sebanyak 2.500 gram dikering anginkan lalu digiling menggunakan grinder dan diperoleh beratnya 450 gram. Proses pengeringan sampel dengan cara kering angin dipilih untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel, namun kurang efektif waktu dalam pengeringan sampel³⁷.

4.3 Uji Fitokimia Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Penentuan metabolit sekunder dilakukan melalui uji profil fitokimia pada daun segar, ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai. Hasil pengujian dicantumkan pada Tabel 4.1, sedangkan hasil pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil		
			Daun Segar	Ekstrak Diklorometana	Ekstrak 1-butanol
1	Flavonoid	HCl + bubuk Mg	+	-	+
2	Fenolik	FeCl ₃	+	+	+
3	Saponin	HCl pekat	-	-	-
4	Triterpenoid	Lieberman-Burchad	-	-	-
5	Steroid	Lieberman-Burchad	+	+	+
6	Alkaloid	Mayer	-	-	-
7	Kumarin	NaOH 1%	-	-	-

Keterangan: + (mengandung metabolit sekunder)

- (tidak mengandung metabolit sekunder)

Berdasarkan data pada Tabel 4.1, dapat diketahui bahwa sampel segar daun tumbuhan bunga bangkai mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, dan steroid. Sedangkan uji fitokimia terhadap ekstrak diklorometana mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, dan steroid. Ekstrak 1-butanol mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik dan steroid. Hasil ini berbeda dengan skrining fitokimia daun tumbuhan bunga bangkai yang dilakukan oleh peneliti lainnya yaitu mengandung alkaloid, steroid, dan fenolik³⁸. Perbedaan ini disebabkan karena lokasi, lingkungan hidup dan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sampel.

4.4 Ekstraksi Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

Sebanyak 450 gram sampel diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut heksana, diklorometana, etil asetat, dan 1-butanol. Metode maserasi ini digunakan karena dalam pengerjaannya sederhana, mudah, dan tidak menggunakan panas sehingga senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tidak terjadi kerusakan³⁹. Hasil ekstraksi sampel bubuk dapat dilihat pada Tabel 4.2 sedangkan perhitungan hasil kadar ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 9.

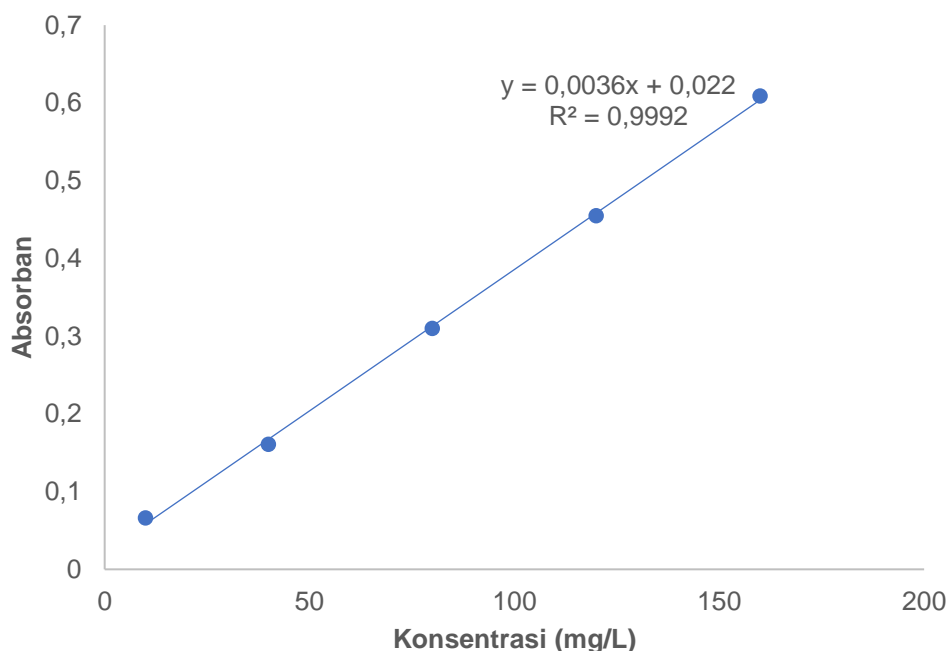
Tabel 4.2 Persentase rendemen ekstrak diklorometana dan 1-butanol

No	Jenis Pelarut	Massa Ekstrak (gram)	Kadar Ekstrak (%)
1	Heksana	20,104	4,47
2	Diklorometana	11,154	2,48
3	Etil asetat	5,635	1,25
4	1-Butanol	9,033	2,01

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dilihat massa ekstrak terbanyak adalah ekstrak heksana diikuti dengan ekstrak diklorometana, 1-butanol dan etil asetat. Perbedaan massa ekstrak ini dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan sebaliknya sesuai prinsip *like dissolve like*⁴⁰. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari pelarut yang digunakan menunjukkan bahwa sampel daun dari tumbuhan bunga bangkai banyak terdapat senyawa metabolit yang bersifat non-polar dan semi-polar daripada senyawa yang bersifat polar.

4.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total

Kandungan fenolik total dari masing-masing ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai ditentukan dari persamaan regresi standar asam galat. Asam galat termasuk senyawa fenolik yang apabila bereaksi dengan reagen Follin Ciocalteu akan memberikan warna kuning. Reaksi ini berlangsung dalam suasana basa sehingga perlu ditambahkan Na_2CO_3 . Saat reaksi berlangsung, gugus fenolik pada asam galat akan bereaksi dengan reagen Follin Ciocalteu sehingga membentuk kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru, sehingga dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis⁴¹. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer ini dibuat kurva standar hubungan absorban dengan variasi konsentrasi asam galat untuk mendapatkan persamaan regresi. Kurva regresi pengukuran absorban asam galat dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kurva kalibrasi standar asam galat

Berdasarkan kurva kalibrasi standar asam galat diatas, didapatkan persamaan regresi $y = 0,0036x - 0,022$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9992$. Persamaan regresi ini digunakan untuk menghitung fenolik total dari masing-masing ekstrak. Nilai fenolik total ini didapatkan dengan cara mensubstitusi nilai absorban sampel ke dalam persamaan regresi standar asam galat. Hasil fenolik total yang didapatkan dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*) yang dapat dilihat pada Tabel 4.3. Perhitungan fenolik total dapat dilihat pada Lampiran 10.

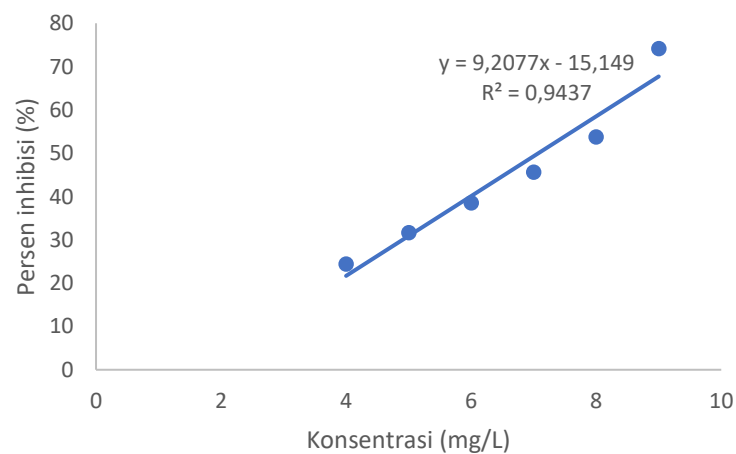
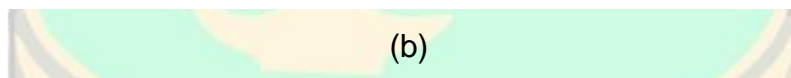
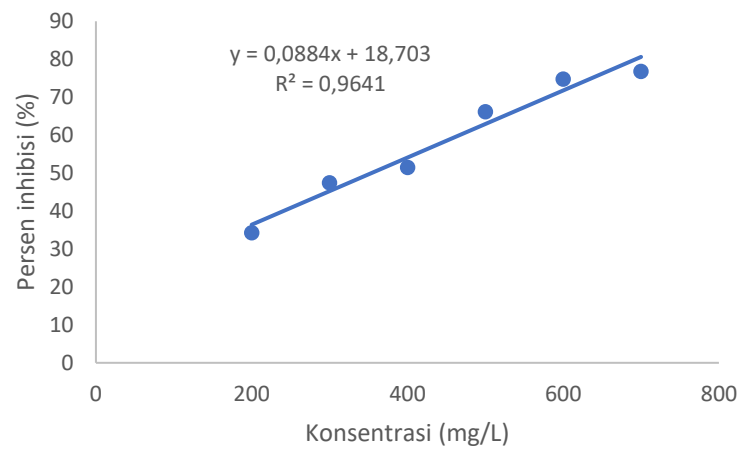
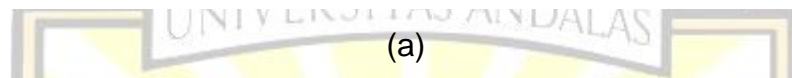
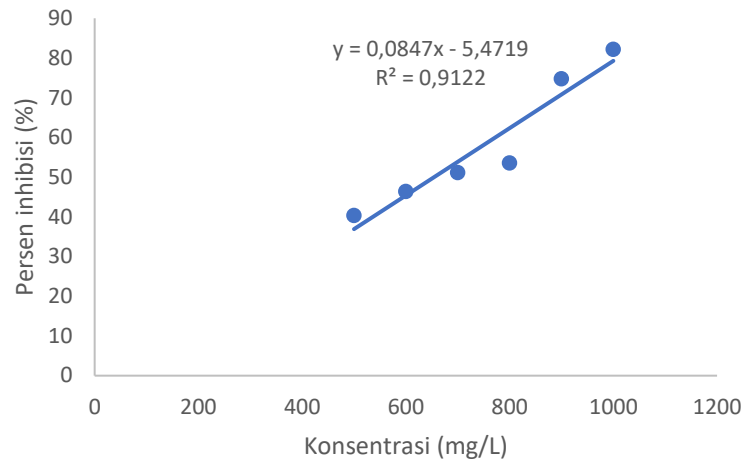
Tabel 4.3 Data kandungan fenolik total ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai

No	Ekstrak	Kosentrasi (mg/L)	Absorban	mg GAE/g
1	Diklorometana	1000	0,199	49,167
2	1-Butanol	1000	0,261	66,389

Pada Tabel 4.2 fenolik total yang terkandung dalam ekstrak 1-butanol lebih tinggi dibandingkan ekstrak diklorometana. Hal ini dikarenakan senyawa fenolik merupakan senyawa yang sangat mudah larut dalam pelarut polar. Seperti penjelasan sebelumnya pelarut 1-butanol lebih bersifat polar, sehingga senyawa fenolik paling banyak terdapat pada ekstrak 1-butanol dibandingkan ekstrak diklorometana yang bersifat semi-polar. Dari penelitian Shete menyebutkan bahwa kandungan fenolik total dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi⁴².

4.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak dari sampel daun tumbuhan bunga bangkai diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH dan pengukuran terhadap asam askorbat yang digunakan sebagai kontrol positif. Penggunaan asam askorbat sebagai kontrol positif sebab asam askorbat (vitamin C) mengandung gugus -OH yang banyak sehingga bisa digunakan sebagai standar pada pengujian aktivitas antioksidan dan harganya lebih murah serta mudah didapatkan. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena proses pengajarannya yang cepat, mudah, sederhana, dan memiliki sensitivitas yang baik serta hanya memerlukan sedikit sampel dalam pengujian aktivitas antioksidan⁴³. Ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai dari berbagai variasi konsentrasi dibuat lalu diuji untuk melihat kemampuan penghambatannya (inhibisi) terhadap radikal bebas DPPH. Nilai inhibisi yang didapatkan pada pengujian memperlihatkan aktivitas antioksidan dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak, sehingga dapat dikatakan berpotensi sebagai antioksidan atau tidak jika memenuhi kategori yang telah disepakati. Adapun tingkatan kekuatan antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.1. Kurva hubungan konsentrasi dan persen inhibisi dari ekstrak dikolorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai dapat dilihat pada Gambar 4.2.



(c)

Gambar 4.2 Kurva hubungan konsentrasi dengan persen inhibisi
(a) ekstrak diklorometana, (b) ekstrak 1-butanol, (c) asam askorbat

Berdasarkan Gambar 4.2 dapat diketahui bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan persen inhibisi. Jika konsentrasi semakin besar maka persen inhibisi yang dihasilkan juga akan semakin besar. Hal ini dikarenakan semakin banyak senyawa aktif yang terdapat dalam larutan senyawa uji untuk mereduksi DPPH menjadi DPPH-H yang ditandai dengan adanya perubahan warna ungu menjadi kuning⁴⁴.

Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning disebabkan karena adanya donor pasangan elektron dari suatu senyawa yang bersifat antioksidan. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa senyawa uji dapat dikatakan memiliki sifat antioksidan karena dapat memberikan elektron atau reduktan kepada DPPH, sehingga mampu menghambat berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Parameter yang biasa digunakan untuk memperlihatkan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan peredaman radikal DPPH adalah dari nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH⁴⁵.

Nilai aktivitas penghambatan radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC_{50} masing-masing ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai dapat dilihat pada Tabel 4.4 sedangkan perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 11.

Tabel 4.4 Nilai konsentrasi inhibisi (IC_{50}) dari ekstrak dan asam askorbat

No	Sampel	IC_{50} (mg/L)
1	Ekstrak Diklorometana	654,922
2	Ekstrak 1-Butanol	354,038
3	Kontrol Positif Asam Askorbat	7,075

Dari Tabel 4.4 dapat dilihat bahwa ekstrak 1-butanol memiliki nilai IC_{50} yang kecil dibandingkan ekstrak diklorometana, sedangkan asam askorbat sebagai kontrol positif untuk membandingkan nilai IC_{50} dari ekstrak dalam penentuan tingkatan kekuatan antioksidan. Asam askorbat memiliki nilai IC_{50} yang kecil dan tergolong sangat aktif sebagai antioksidan sehingga dapat dibandingkan dengan nilai persen inhibisi dari sampel yang digunakan. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi⁴⁶.

Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak 1-butanol mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak diklorometana. Hal ini sebanding dengan tingginya kandungan fenolik total yang terdapat pada ekstrak

1-butanol dibandingkan ekstrak diklorometana. Tumbuhan yang memiliki lebih banyak kandungan fenolik menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik, sehingga nilai fenolik total memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan⁴². Menurut Fukumoto dan Mazza, aktivitas antioksidan akan meningkat seiring dengan bertambahnya gugus -OH dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida yang terikat pada senyawa⁴⁷. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang didapat, golongan senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan di dalam ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai adalah flavonoid, fenolik, steroid. Senyawa fenolik, dan flavonoid pada dasarnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas, sehingga berpotensi sebagai antioksidan⁴⁸. Berdasarkan Tabel 2.1 dapat dinyatakan IC_{50} ekstrak 1-butanol (354,038 mg/L) lebih baik dari ekstrak diklorometana (654,922 mg/L) dikarenakan ekstrak 1-butanol mengandung flavonoid, fenolik, dan steroid sedangkan ekstrak diklorometana hanya mengandung flavonoid dan steroid. Namun nilai aktivitas antioksidan yang didapat ini tergolong lemah. Rendahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar kemungkinan karena kadar senyawa antioksidan dalam ekstrak sangat rendah akibat banyaknya komponen lain yang tidak bersifat antioksidan⁴⁹. Ekstrak yang belum murni masih mengandung senyawa-senyawa seperti garam, mineral, dan nutrien-nutrien yang bisa menghambat kerja dari senyawa antioksidan⁵⁰.

Hubungan fenolik total dan antioksidan berbanding lurus, dimana semakin tinggi kandungan fenolik total dalam suatu sampel maka semakin kuat aktivitas antioksidan dalam sampel tersebut. Hal ini dikarenakan semakin banyak senyawa fenol yaitu senyawa yang memiliki gugus hidroksi yang dapat mendonorkan hidrogennya sehingga dapat distabilkan karena adanya resonansi pada struktur fenolik, sehingga senyawa ini dapat digunakan sebagai antioksidan⁵¹. Penentuan nilai inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak daun bunga bangkai dan asam askorbat dapat dilihat pada Lampiran 11.

4.7 Uji Aktivitas Sitotoksik

Uji toksisitas dari daun tumbuhan bunga bangkai telah dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina*. Metode ini dilakukan sebagai pengujian awal toksisitas dari ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai yang didapatkan dengan menggunakan nilai LC_{50} . Ekstrak yang bersifat toksik saat diuji dengan menggunakan metode BSLT dapat menyebabkan kematian 50% larva *Artemia salina* dalam waktu 24 jam. Pada konsentrasi LC_{50} lebih kecil dari 1000 mg/L yang menandakan bahwa sampel bersifat

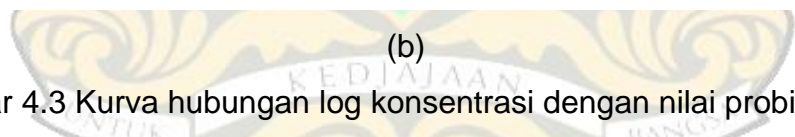
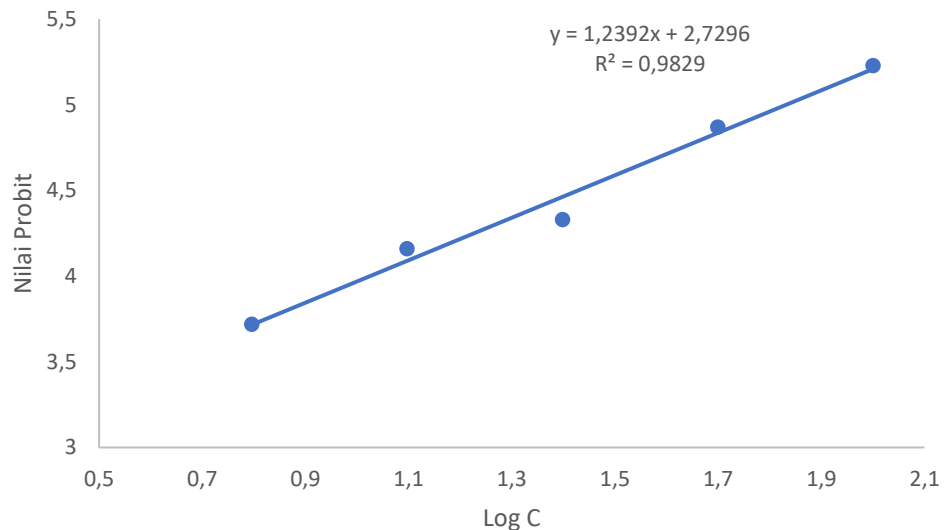
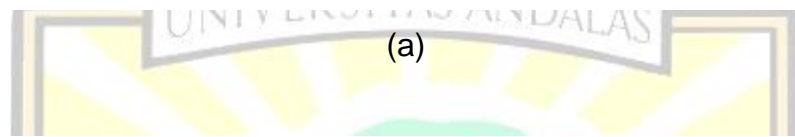
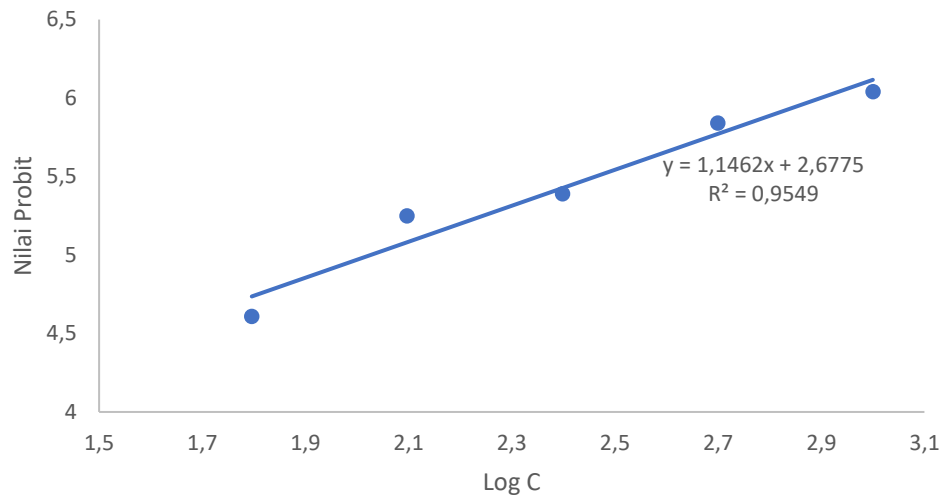
toksik dan memiliki potensi sebagai antikanker, antibakteri, antijamur⁴³. Hasil uji sitotoksik dapat dilihat pada Tabel 4.5 sedangkan perhitungan LC₅₀ dapat dilihat pada Lampiran 12.

Tabel 4.5 Hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai

No	Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Total Larva yang Mati (ekor)			Persen Kematian (%)	Nilai Probit	Log C
			I	II	Rata-rata			
1	Diklorometana	62,5	3	4	3,5	35	4,61	1,796
		125	6	6	6	60	5,25	2,097
		250	6	7	6,5	65	5,39	2,396
		500	8	8	8	80	5,84	2,699
		1000	8	9	8,5	85	6,04	3
2	1-Butanol	6,25	1	1	1	10	3,72	0,796
		12,5	2	2	2	20	4,16	1,097
		25	3	4	3,5	35	4,33	1,396
		50	4	5	4,5	45	4,87	1,699
		100	6	6	6	60	5,23	2
3	Kontrol	0	0	0	0	0	0	

Keterangan: pengerjaan tiap konsentrasi dilakukan duplo dan larva yang dimasukkan ke dalam setiap vial berjumlah 10 ekor.

Dapat dilihat dari Tabel 4.5 larva udang *Artemia salina* yang telah diberikan perlakuan mengalami kematian, sebanding dengan tingginya konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka toksisitasnya juga akan semakin tinggi, sehingga mortalitas pada larva udang *Artemia salina* meningkat. Larva udang *Artemia salina* yang berada dalam tabung percobaan 0 mg/L ekstrak yang berfungsi sebagai kontrol negatif tidak memberikan kematian sama sekali dalam selang waktu 1 hari. Hal ini membuktikan bahwa larva udang *Artemia salina* yang mati disebabkan oleh toksisitas dari ekstrak. Persentase kematian larva udang pada berbagai variasi konsentrasi akan dikonversi menjadi nilai probit. Tabel nilai probit dapat dilihat pada Lampiran 13. Kurva antara nilai probit dengan log konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit uji sitotoksik
(a) ekstrak diklorometana, (b) ekstrak 1-butanol

Berdasarkan Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa log konsentrasi larutan uji sebanding dengan nilai probit. Nilai probit sebanding dengan persentase kematian larva udang, sehingga semakin besar konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin besar angka kematian pada larva udang. Hal ini dikarenakan semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel untuk masuk kedalam sel larva udang yang menyebabkan kemampuan bertahan hidup larva udang semakin berkurang. Tingkat toksisitas dapat ditentukan dengan nilai LC_{50} -nya, dikatakan toksik jika $LC_{50} < 1000$ mg/L dan tidak toksik jika $LC_{50} > 1000$ mg/L⁵². Hasil uji toksisitas ekstrak daun bunga bangkai dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Nilai konsentrasi LC₅₀ dari ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai

No	Ekstrak	LC ₅₀ (mg/L)
1	Diklorometana	115,345
2	1-Butanol	67,95

Berdasarkan Tabel 4.6 menunjukkan bahwa ekstrak 1-butanol memiliki nilai LC₅₀ yang lebih rendah dibandingkan ekstrak diklorometana dengan nilai LC₅₀ ekstrak 1-butanol 67,95 mg/L dan ekstrak diklorometana 115,345 mg/L, sehingga ekstrak 1-butanol bersifat lebih toksik daripada ekstrak diklorometana. Tingginya aktivitas sitotoksik ekstrak 1-butanol terhadap larva udang *Artemia salina* dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif dalam ekstrak tersebut. Senyawa yang terkandung pada ekstrak 1-butanol berupa flavonoid, fenolik, dan steroid. Sedangkan pada ekstrak diklorometana hanya fenolik dan steroid.

Adanya gugus -OH yang terikat pada senyawa flavonoid, fenolik, dan beberapa steroid memiliki sifat racun terhadap larva udang *Artemia salina*. Gugus -OH dapat menembus dan merusak permeabilitas sel *Artemia salina* dengan membentuk ikatan hidrogen pada sisi aktif membran sel. Ikatan senyawa non polar dari steroid dengan bagian non polar dari membran sel juga dapat mengganggu permeabilitas sel dan proses biokimia. Akibatnya sel tidak selektif sehingga mengakibatkan kematian pada larva udang *Artemia salina*⁵³. Efek sitotoksik terhadap larva udang berupa indikasi terganggunya proses pertumbuhan sel, dalam hal ini diasumsikan sebagai sel kanker⁵⁴.

BAB V

PENUTUP

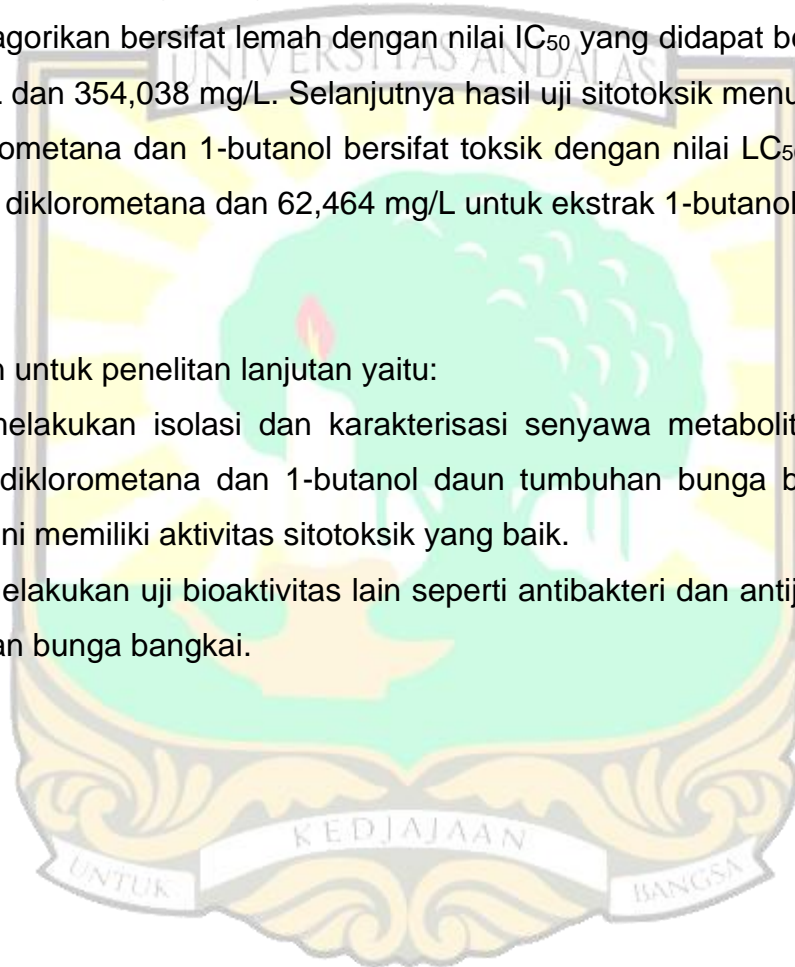
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun tumbuhan bunga bangkai mengandung senyawa metabolit sekunder (flavonoid, fenolik, dan steroid). Ekstrak diklorometana mengandung (fenolik dan steroid), serta pada ekstrak 1-butanol mengandung (flavonoid, fenolik dan steroid). Nilai fenolik total yang didapatkan pada ekstrak diklorometana dan 1-butanol berurutan adalah 49,167 mgGAE/g dan 66,389 mgGAE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak diklorometana, dan 1-butanol dikategorikan bersifat lemah dengan nilai IC_{50} yang didapat berurutan adalah 654,922 mg/L dan 354,038 mg/L. Selanjutnya hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana dan 1-butanol bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 115,345 mg/L untuk ekstrak diklorometana dan 62,464 mg/L untuk ekstrak 1-butanol.

5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian lanjutan yaitu:

1. Untuk melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai, karena ekstrak ini memiliki aktivitas sitotoksik yang baik.
2. Untuk melakukan uji bioaktivitas lain seperti antibakteri dan antijamur dari daun tumbuhan bunga bangkai.



DAFTAR PUSTAKA

- (1) WHO. *Globocan (Global Cancer Observatory)*; 2020.
- (2) Kim, J. S.; Jeong, K.; Murphy, J. M.; Rodriguez, Y. A. R.; Lim, S. T. S. A Quantitative Method to Measure Low Levels of ROS in Nonphagocytic Cells by Using a Chemiluminescent Imaging System. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2019**, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1754593>.
- (3) Pham-Huy, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science* **2008**, 4 (2), 89–96.
- (4) Vaya, J.; Aviram, M. Nutritional Antioxidants: Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Curr. Med. Chem.-Imm., Endoc. & Metab. Agents* **2001**, 1, 99–117.
- (5) Kusriani, H.; Subarnas, A.; Diantini, A.; Iskandar, Y.; Marpaung, S.; Juliana, M.; Silalahi, F. Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Serta Penetapan Kadar Senyawa Fenol Total Ekstrak Daun, Bunga, Dan Rimpang Kecombrang (*Etlingera elatior*). *Pharmacy* **2017**, 14 (1), 51–63.
- (6) Mutaqin, A. Z.; Kurniadie, D.; Iskandar, J.; Nurzaman, M.; Partasasmita, R. Ethnobotany of *Amorphophallus paeoniifolius*: Morphology, Folk Classification, and Habitat in Area around Mt. Ciremai, Cimanuk Watershed Region, West Java, Indonesia. *Biodiversitas* **2020**, 21 (8), 3898–3909.
- (7) Santosa, E.; Mine, Y.; Nakata, M.; Lian, C.; Sugiyama, N. Genetic Diversity of Cultivated Elephant Foot Yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) in Kuningan, West Java as Revealed by Microsatellite Markers. *Journal of Applied Horticulture* **2010**, 12 (2), 125–128.
- (8) Ansil, P. N.; Nitha, A.; Prabha, S. P.; Wills, P. J.; Jazaira, V.; Latha, M. S. Protective Effect of *Amorphophallus campanulatus* (Roxb.) Blume Tuber against Thioacetamide Induced Oxidative Stress in Rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **2011**, 4 (11), 870–877.
- (9) Khan, A.; Rahman, M.; Islam, S. Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of Tuberos Roots of *Amorphophallus campanulatus*. *Turkish Journal of Biology* **2007**, 31 (3), 167–172.
- (10) Jagatheesh, K.; Arumugan, V.; Elangovan, N.; Pavan, K. Evaluation of the Anti-Tumor and Antioxidant Activity of *Amorphophallus paeonifolius* on DMBA Induced Mammary Carcinoma. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* **2010**, 1 (2).
- (11) Yuzammi; Handayani, T. Analysis of Nutrient and Anti-Nutrient Compositions of “Suweg” (*Amorphophallus paeoniifolius*) Cultivated in Java; Bogor, 2019.
- (12) Mallik, J.; Das, J.; Kumar Banik, R.; Das, M. J. Pharmacognostic Profile And Pharmacological Activity Of Different Parts Of *Amorphophallus campanulatus*

- (Roxb.) Overview. *Asian Journal of Pharmaceutical research and Development* **2018**, 6 (1), 4–8.
- (13) *Amorphophallus paeoniifolius* The IUCN Red List of Threatened Species™; 2015. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013>.
- (14) Jintan; Yuzammi; Suwastika, I. N.; Pitopang, R. Studi Beberapa Aspek Botani *Amorphophallus paeoniifolius* Dennst. Nicolson (Araceae) Di Lembah Palu. *Online Jurnal of Natural Science* **2015**, 4 (1), 17–31.
- (15) Sholihin, R.; Purwantoro, R. S. Vegetative Growth of of *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc. at Cibodas Botanic Garden. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* **2005**, 6 (3), 190–193. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d060311>.
- (16) Mulyati; Djufri; Suprianto. Analisis Vegetasi Naungan Bunga Bangkai (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson) Di Kecamatan Padang Tiji Kabupaten Pidie. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unsyiah* **2017**, 2 (1), 98–105.
- (17) Singh, A.; Wadhwa, N. A Review on Multiple Potential of Aroid: *Amorphophallus paeoniifolius*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2014**, 24 (1), 55–60.
- (18) Firman, D.; Nurhaeni, N.; Ridhay, A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Suweg (*Amorphophallus paeoniifolius*) Dari Berbagai Tingkat Polaritas Pelarut. *Kovalen Jurnal Riset Kimia* **2016**, 2 (1), 61–69.
- (19) Ra, S.; Sm, B.; Km, M.; Pv, H. Isolation and Characterization of Secondary Metabolite from *Amorphophallus paeoniifolius* for Hepatoprotective Activity. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* **2010**, 1 (4), 429–437.
- (20) Dhurhanian, C.; Novianto, A. Uji Kandungan Fenolik Total Dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* **2018**, 5 (2), 62.
- (21) Hapsari, A. M.; Masfria, M.; Dalimunthe, A. Pengujian Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Tempuyung (*Shoncus arvensis* L.). *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)* **2018**, 1 (1), 284–290.
- (22) Parwata, I. M. O. A. Antioksidan; Universitas Udayana: Bali, 2016.
- (23) Yadav, A.; Kumari, R.; Yadav, A.; Mishra, J. P.; Prabha, S. Antioxidants and Its Functions in Human Body-A Review. *Research in Environment and Life Sciences* **2016**, 9 (11), 1328–1331.
- (24) Kesuma Sayuti, I.; Yenrina, R. Antioksidan Alami Dan Sintetik, 1st ed.; Fahrezionaldo, D., Y, S., Eds.; Andalas University Press: Padang, 2015.

- (25) Purwanto, D.; Bahri, S.; Ridhay, A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *KOVALEN* **2017**, 3 (1), 24–32.
- (26) Anggresani, L.; Yuliawati; Desriyanti. Uji Total Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Thitonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray). *Riset Informasi Kesehatan* **2017**, 6 (1), 18–23.
- (27) Tianandari, F.; Rasidah. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Buah Ketumbar (*Coriandrum sativum* Linn) Terhadap Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal AcTion* **2017**, 2 (2).
- (28) Mardiyarningsih, A.; Ismiyati, N. Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Pada Sel Kanker Leher Rahim Hela. *Traditional Medicine Journal* **2014**, 19 (1), 2014.
- (29) Kedia, A.; Prakash, B.; Mishra, P. K.; Singh, P.; Dubey, N. K. Botanicals as Eco Friendly Biorational Alternatives of Synthetic Pesticides against *Callosobruchus* Spp. (Coleoptera: Bruchidae)—a Review. *Journal of Food Science and Technology*. Springer March 1, 2015, pp 1239–1257.
- (30) Anggrianti, P. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel Hela, Surakarta, 2008.
- (31) Purwanto, N.; Rismawati, E.; Sadiyah, E. R. Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). In *Prosding Penelitian Sivitas Akademika Unisba*; 2015; pp 616–622.
- (32) Fadhli, H.; Uswatun Hasanah, bani. Uji Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida* Roxb) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SCIENTIA J. Far. Kes* **2019**, 9 (2).
- (33) Pardede, A.; Manjang, Y.; Efdi, M. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Dari Kulit Batang Manggis Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Dari Kulit Batang Manggis (*Garcinia cymosa*). *Media Sains* **2013**, 6 (2), 60–66.
- (34) Arifin, B.; Hasnirwan; Hermansyah. Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Salam (*Polyanthi folium*); Universitas Tanjungpura: Pontianak, 2015; pp 277–283.
- (35) Reichardt, C. (Christian). *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*; Wiley-VCH, 2003.
- (36) Reza Saputra, O.; Diharmi, A. Ekstraksi Anggur Laut (*Caulerpa lentillifera*) Secara Maserasi Bertingkat Dengan Pelarut Berbeda Polaritas. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* **2021**, 1–8.
- (37) Widarta, I. W. R.; Wiadnyani, A. A. I. S. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* **2019**, 8 (3), 80.

- (38) Annisah, S. N.; Muhtadi. Uji Aktivitas Antioksidan Batang Dan Daun Tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume), Suweg (*Amorphophallus paeoniifolius*), Iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*), dan Walur (*Amorphophallus campanulatus*) Serta Profil Fitokimianya. *Universitas Research Colloqium* **2021**, 574-581.
- (39) Badaring, D. R.; Puspitha, S.; Sari, M.; Nurhabiba, S.; Wulan, W.; Anugrah, S.; Lembang, R.; Biologi, J. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences* **2020**, 6 (1).
- (40) Mariana, L.; Andayani, Y.; Gunawan, E. R. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Chem. Prog* **2013**, 6 (2).
- (41) Tahir, M.; Muflihunna, A.; Syafrianti. Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **2017**, 4 (1), 215–218.
- (42) Shete, C. C.; Wadkar, S. S.; Gaikwad, N. B.; Patil, K. S.; Ghosh, J. S. Phenolic Contents and Antioxidant Capacity of *Amorphophallus commutatus* and *Amorphophallus paeoniifolius*. *International Food Research Journal* **2015**, 22 (5), 1939–1944.
- (43) Afifah, D. N.; Fridayanti, A.; Masruhim, M. A. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Miana (*Coleus atropurpureus* Benth); 2015; pp 5–6.
- (44) Bahriul, P.; Rahman, N.; Diah, A. W. M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan DPPH. *Jurnal Akademika Kimia* **2014**, 3 (3), 143–149.
- (45) Jabbar, A.; Wahyuni, W.; Malaka, M. H.; Apriliani, A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang Dan Rimpang Pada Tanaman Wuale (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)* **2019**, 5 (2), 189–197.
- (46) Itam, A.; Wulandari, A.; Rahman, M. M.; Ferdinal, N. Preliminary Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Alstonia Scholaris* R. Br Leaves and Stem Bark Extracts. *Jouranl of Pharmaceutical* **2018**, 10 (3), 518–522.
- (47) Fukumoto, L. R.; Mazza, G. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48 (8), 3597–3604.
- (48) Zuraida; Sulistiyani; Sajuthi, D.; Suparto, I. H. Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* **2017**, 35 (3), 211–219.

- (49) Wikanta, T.; Januar, H. I.; Nursid, M. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, Dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodymenia palmata*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* **2005**, *11* (4), 41–49.
- (50) Leksono, W. B.; Pramesti, R.; Santosa, G. W.; Setyati, W. A. Jenis Pelarut Metanol Dan n-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gelidium* Sp. Dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis* **2018**, *21* (1), 9.
- (51) Marika Viranda Putri. Pengujian Kandungan Fenol Total Tomat (*Lycopersicum esculentum*) Secara In Vitro, 2009.
- (52) Cahyaningrum, K.; Husni, A.; Budhiyanti, S. A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum*). *Jurnal Agritech* **2016**, *36* (02), 137. <https://doi.org/10.22146/agritech.12857>.
- (53) Rizqiyah, A. H. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2014.
- (54) Fadhli, H.; Uswatun Hasanah, bani. Uji Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida* Roxb) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SCIENTIA J. Far. Kes* **2019**, *9* (2).



Lampiran 1. Hasil Identifikasi Sampel



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 023/K-ID/ANDA/I/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Rafil Hamdillah
Di
Tempat

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Rafil Hamdillah
No. BP : 1610412003
Instansi : Kimia UNAND

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Araceae	<i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 24 Januari 2020

Kepala,



Dr. Nurainas, M.Si

NIP. 196908141995122001

Lampiran 2 Perparasi Sampel

Daun segar tumbuhan bunga bangkai

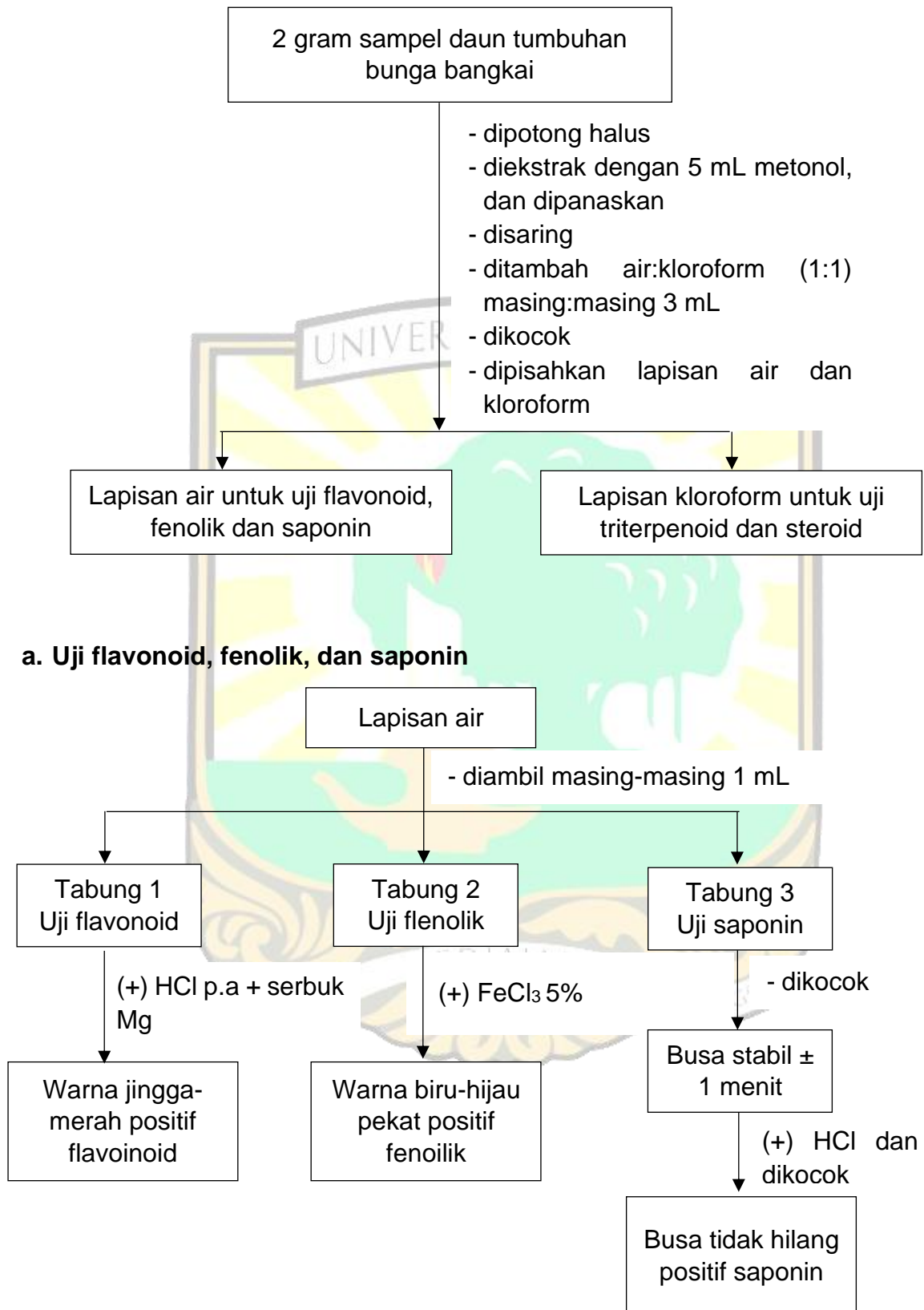
- dirajang halus
- dikering anginkan selama pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari
- digiling dengan grinder

Sampel bubuk daun tumbuhan
bunga bangkai

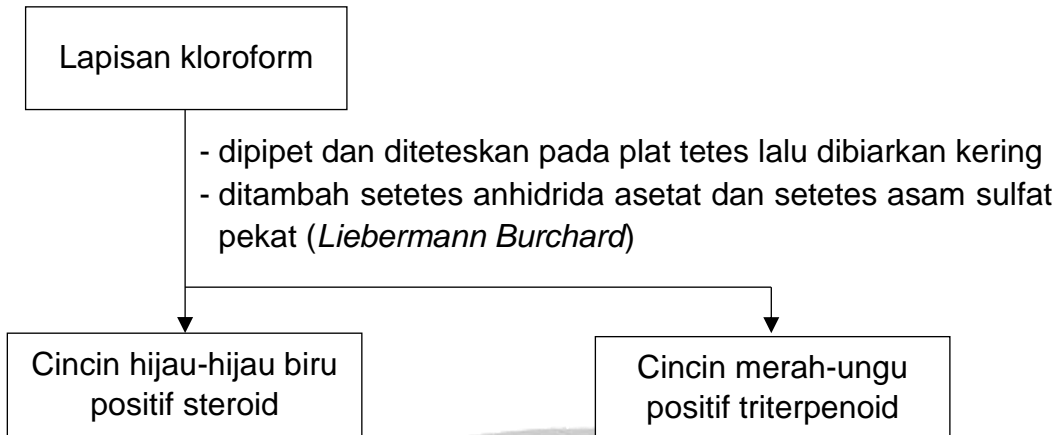


Lampiran 3. Uji Profil Fitokimia Sampel

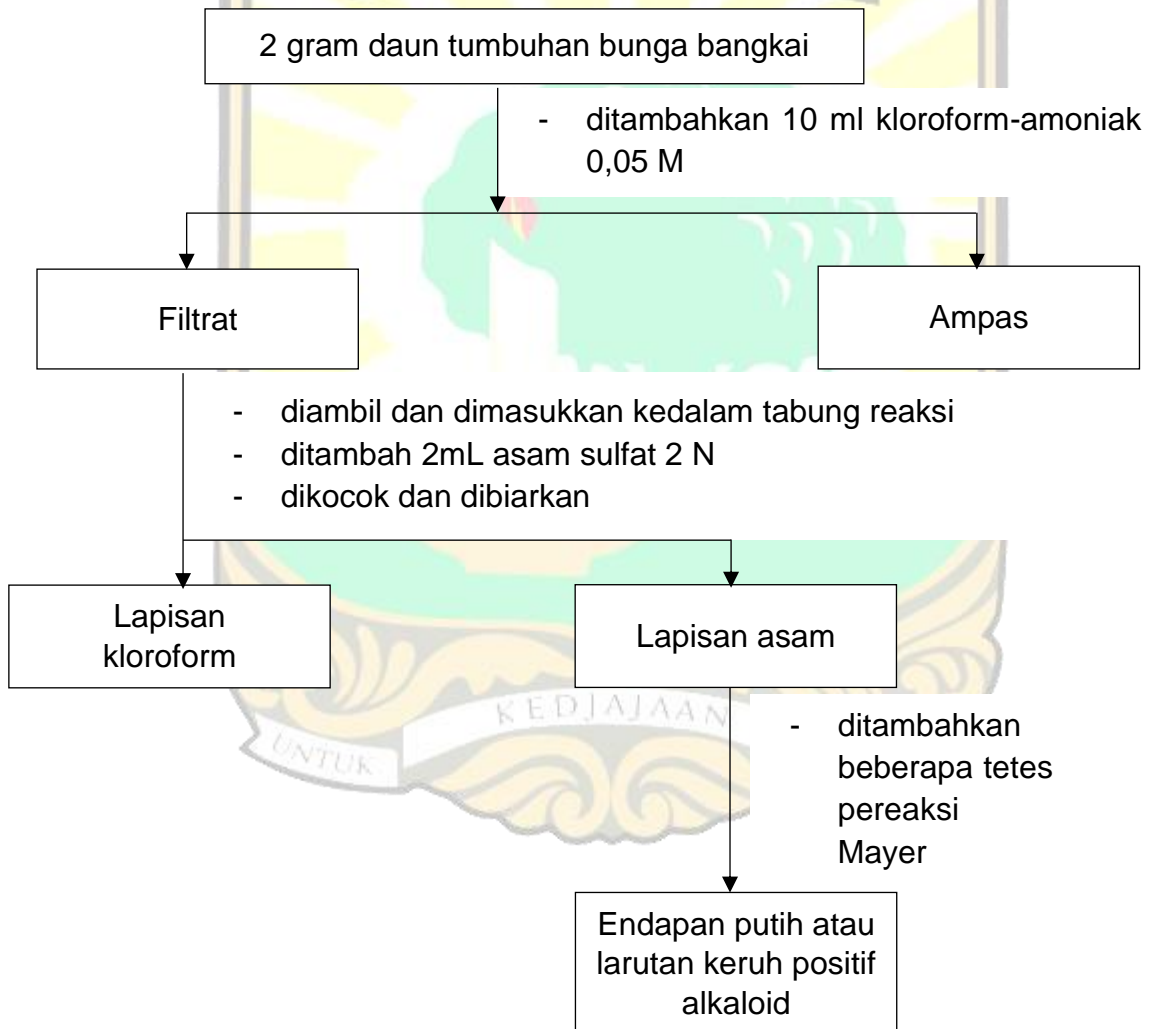
1. Pemeriksaan Flavonoid, Saponin, Triterpenoid, dan Steroid



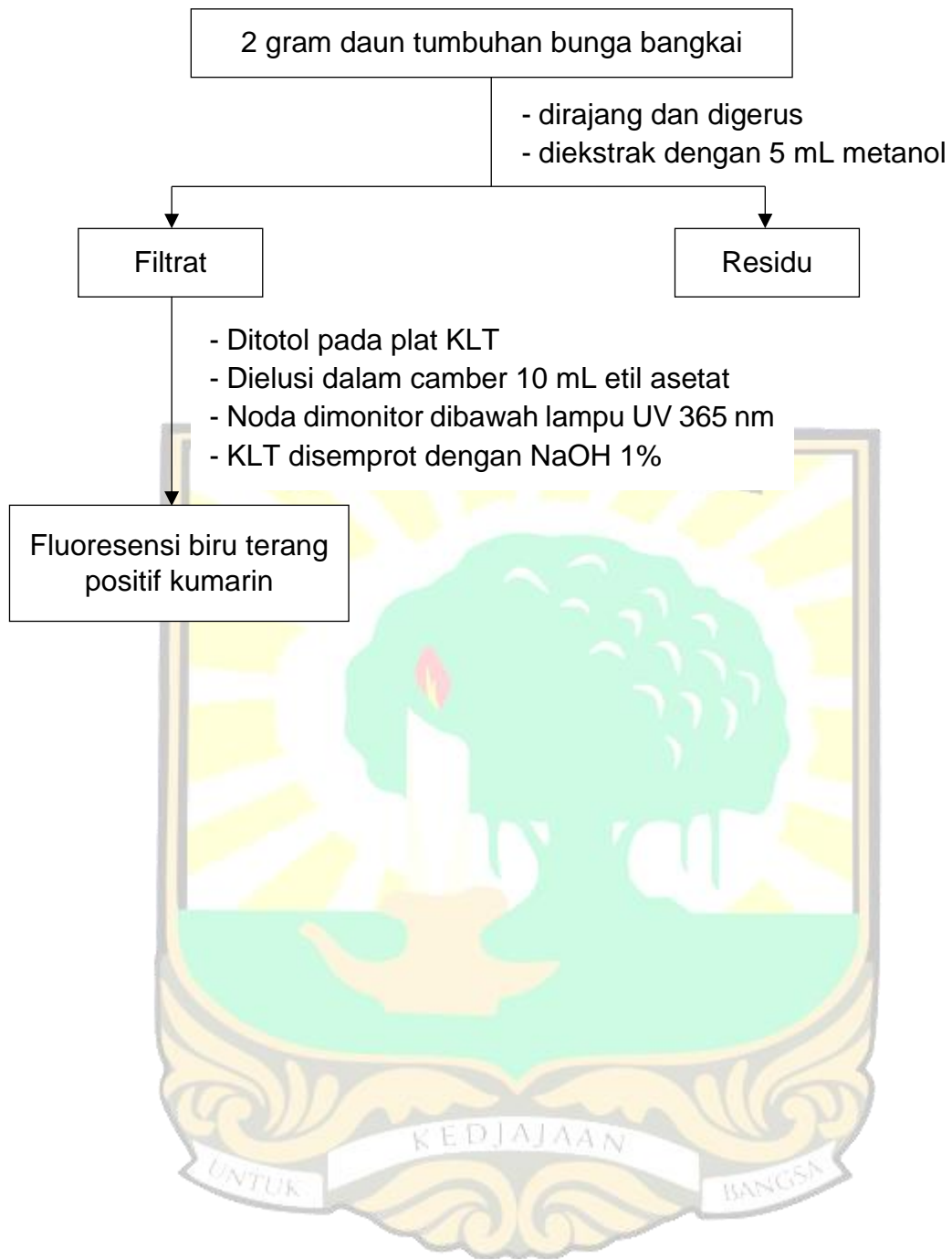
b. Uji triterpenoid dan steroid (*Liebermann Burchard*)



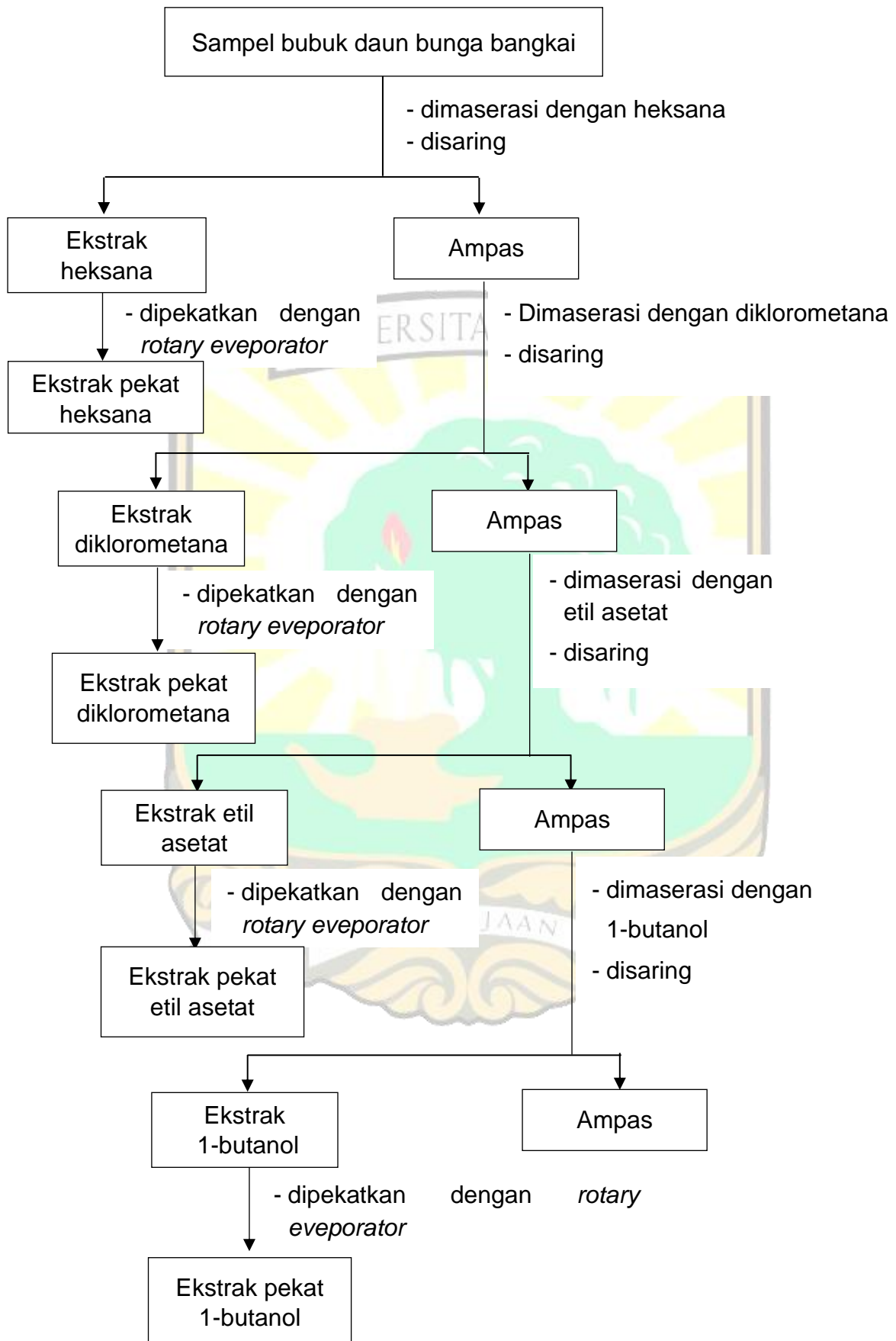
2. Uji alkaloid



3. Uji Kumarin

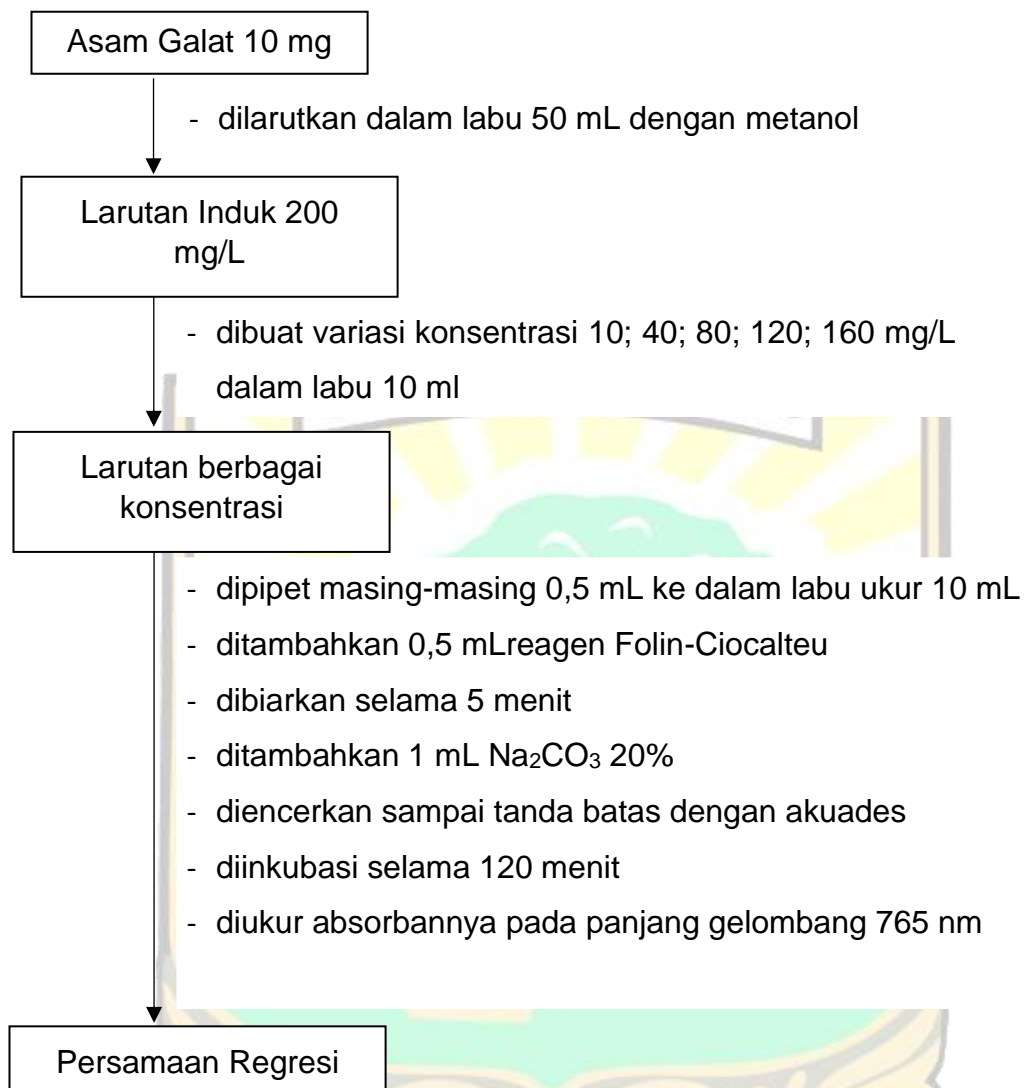


Lampiran 4. Ekstraksi Sampel

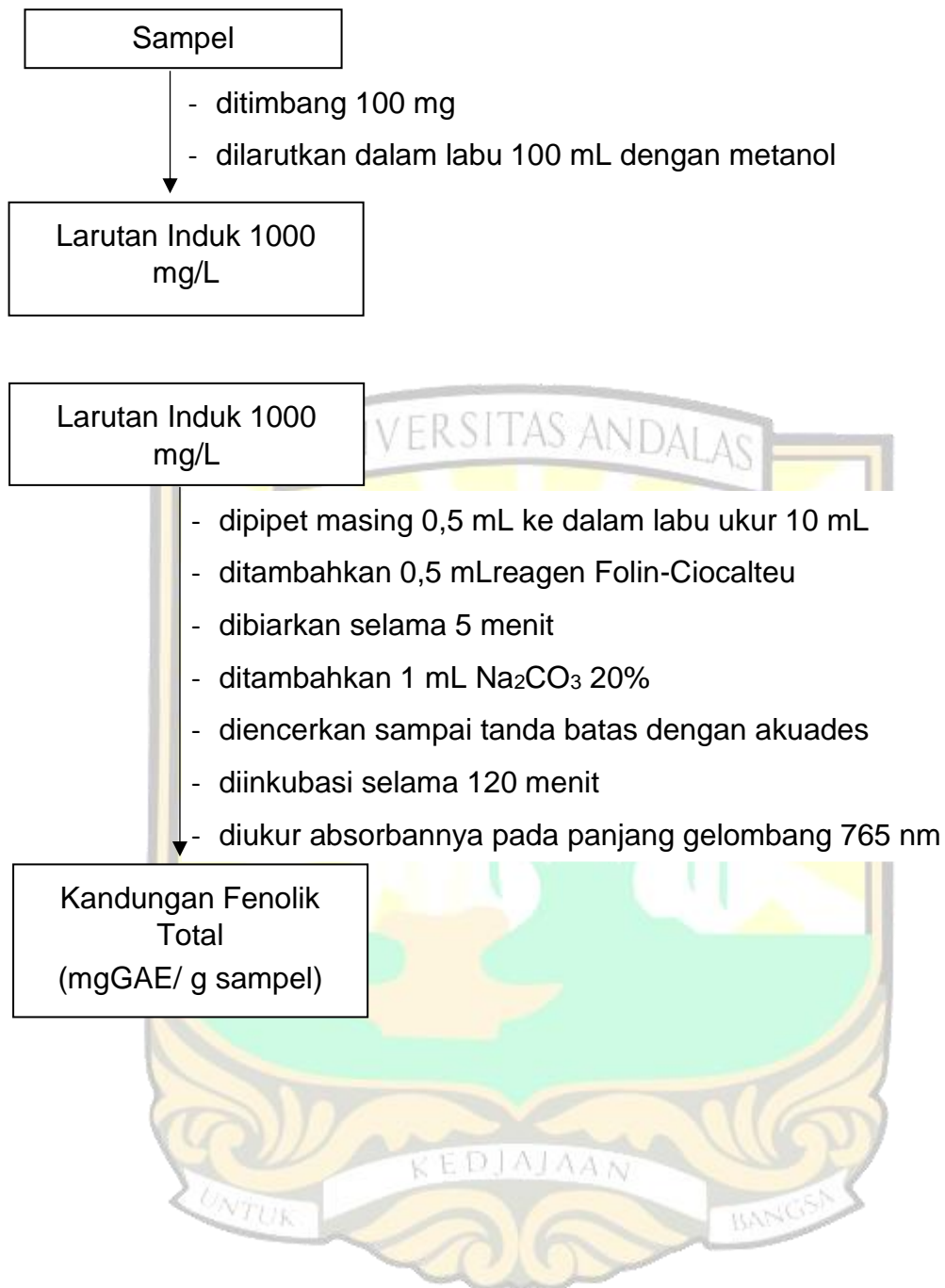


Lampiran 5. Uji Kandungan Fenolik Total

1. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

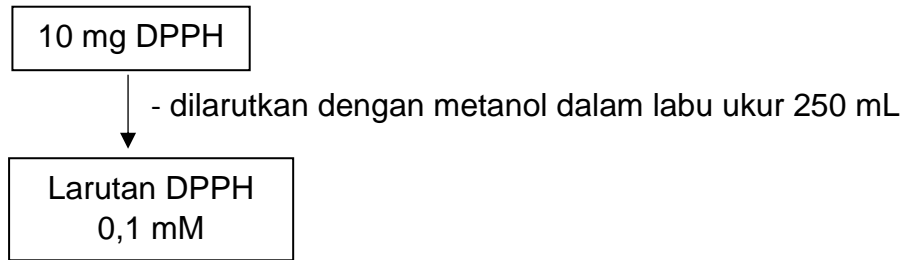


2. Pembuatan Larutan Uji

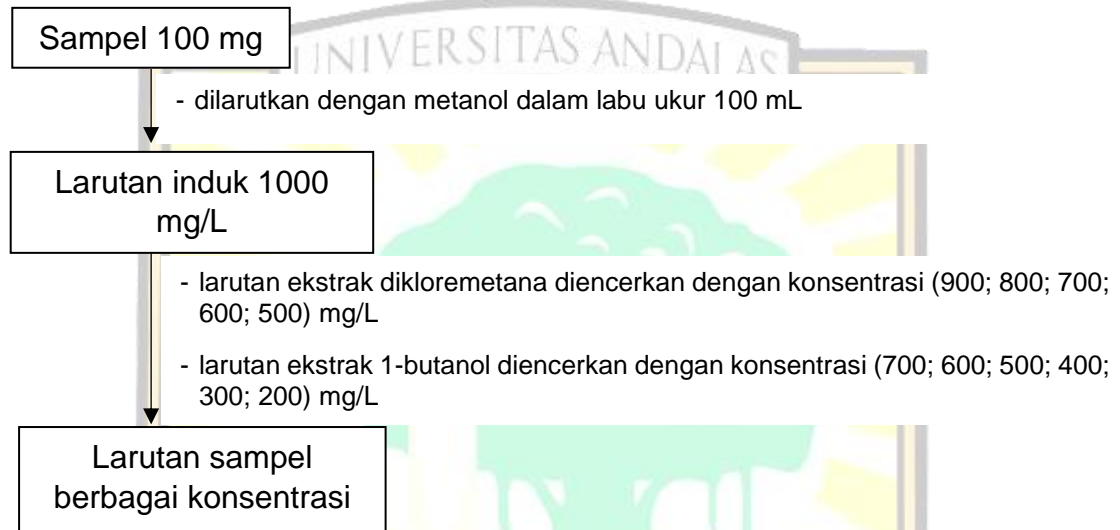


Lampiran 6. Uji Aktivitas Antioksidan

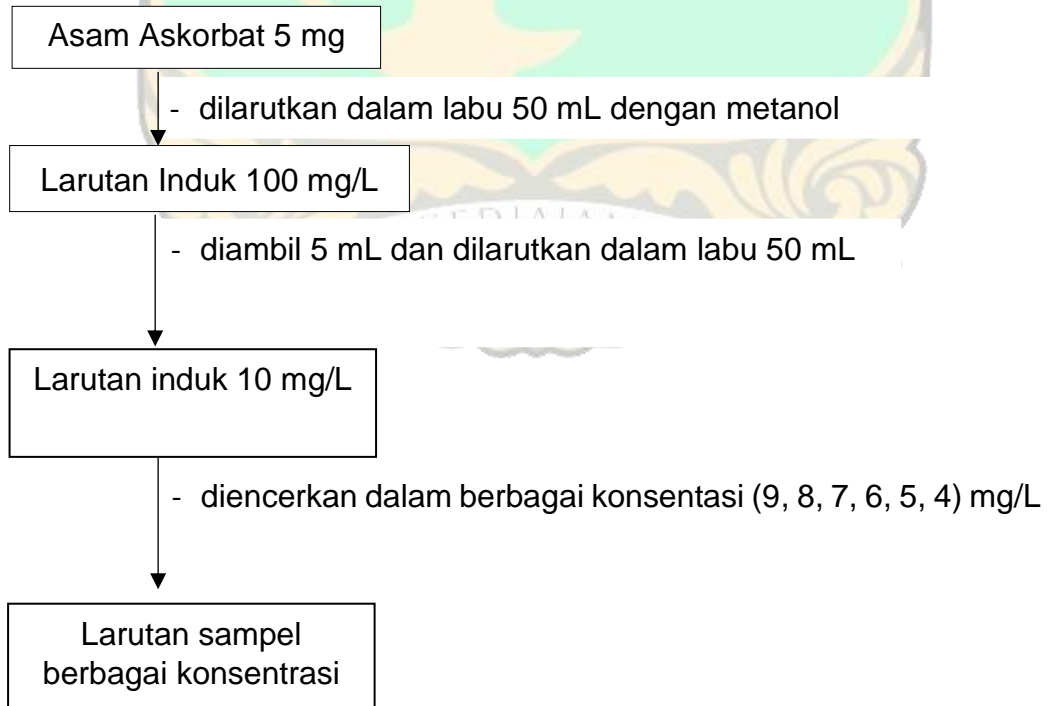
1. Pembuatan Larutan DPPH



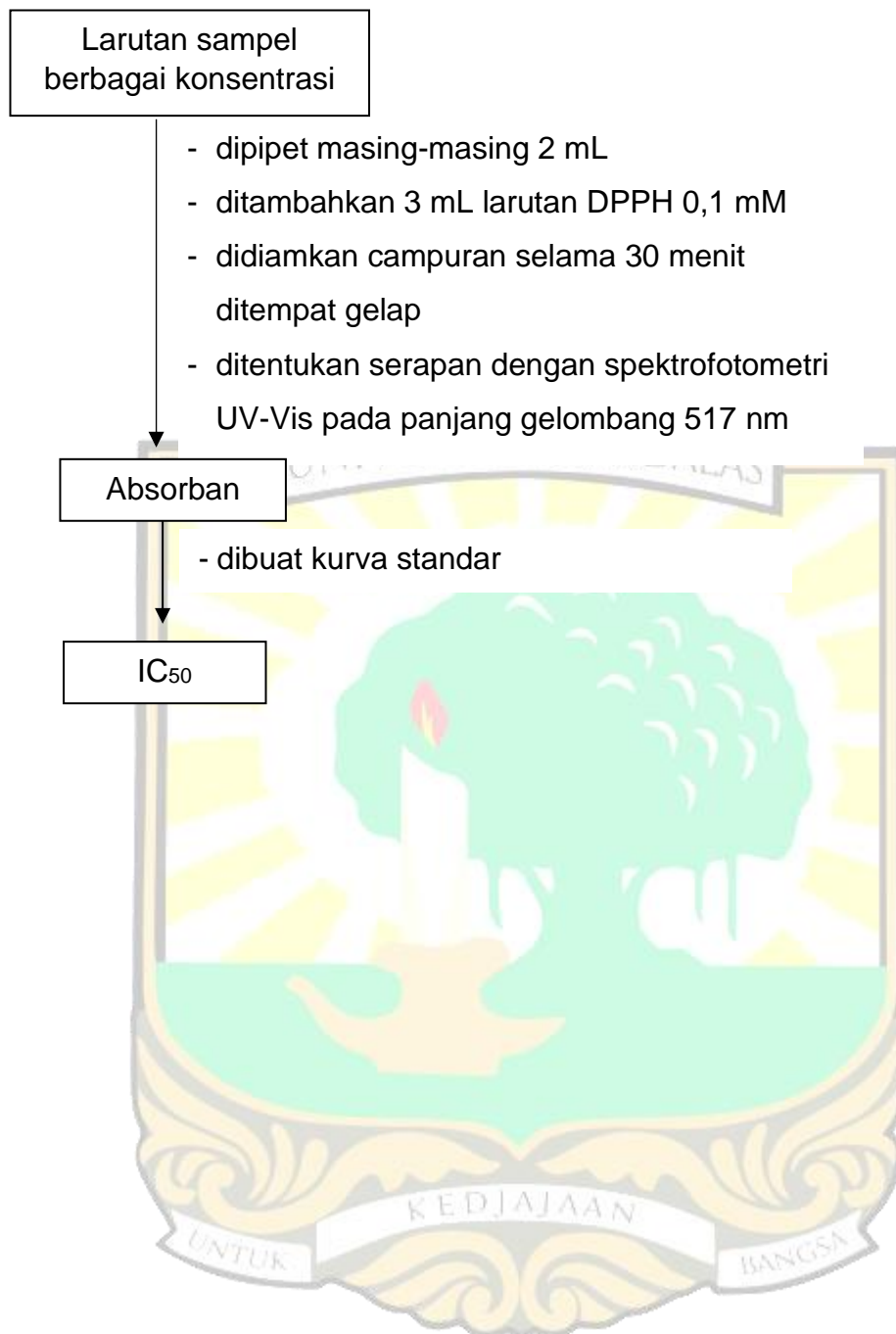
2. Pembuatan Larutan Sampel



3. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

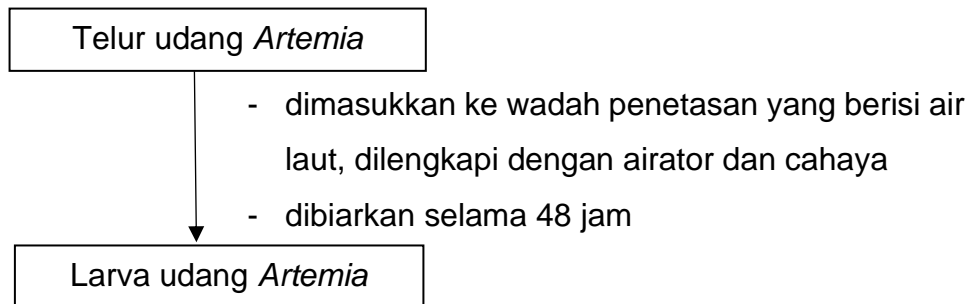


4. Pengujian Aktivitas Antioksidan

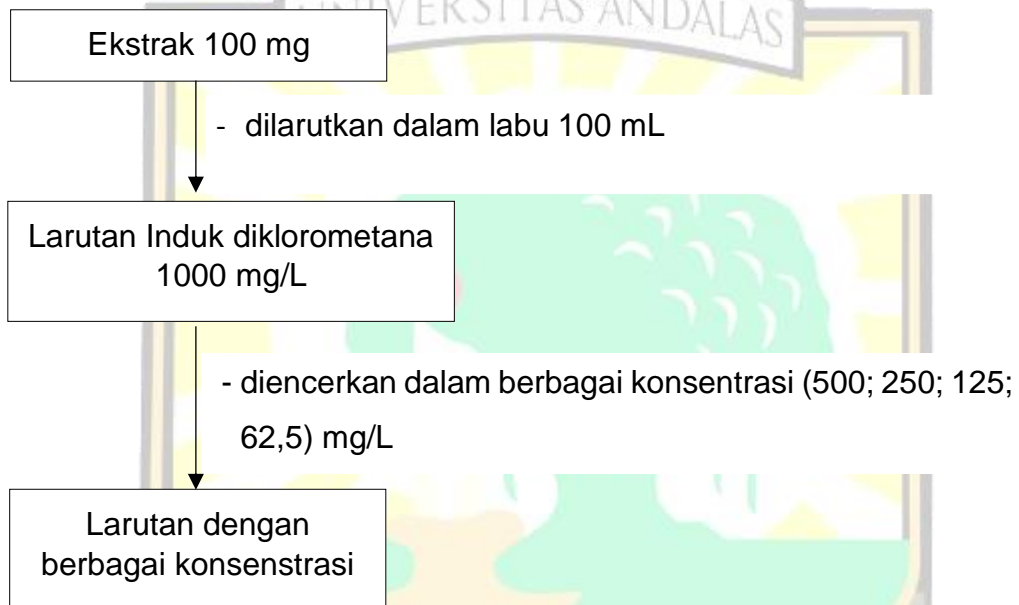


Lampiran 7. Uji Aktivitas Sitotoksik

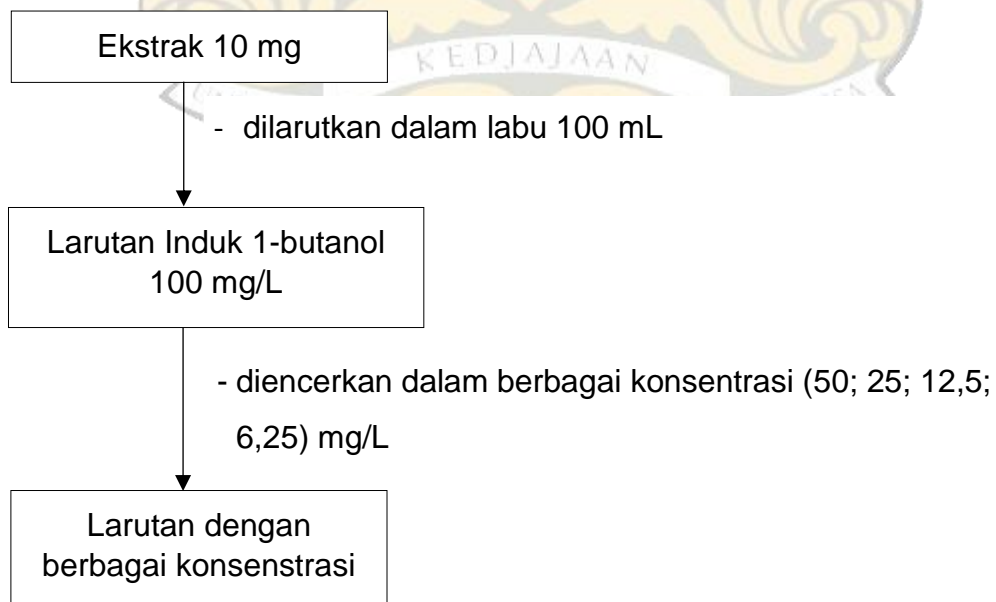
1. Pembenihan Larva Udag



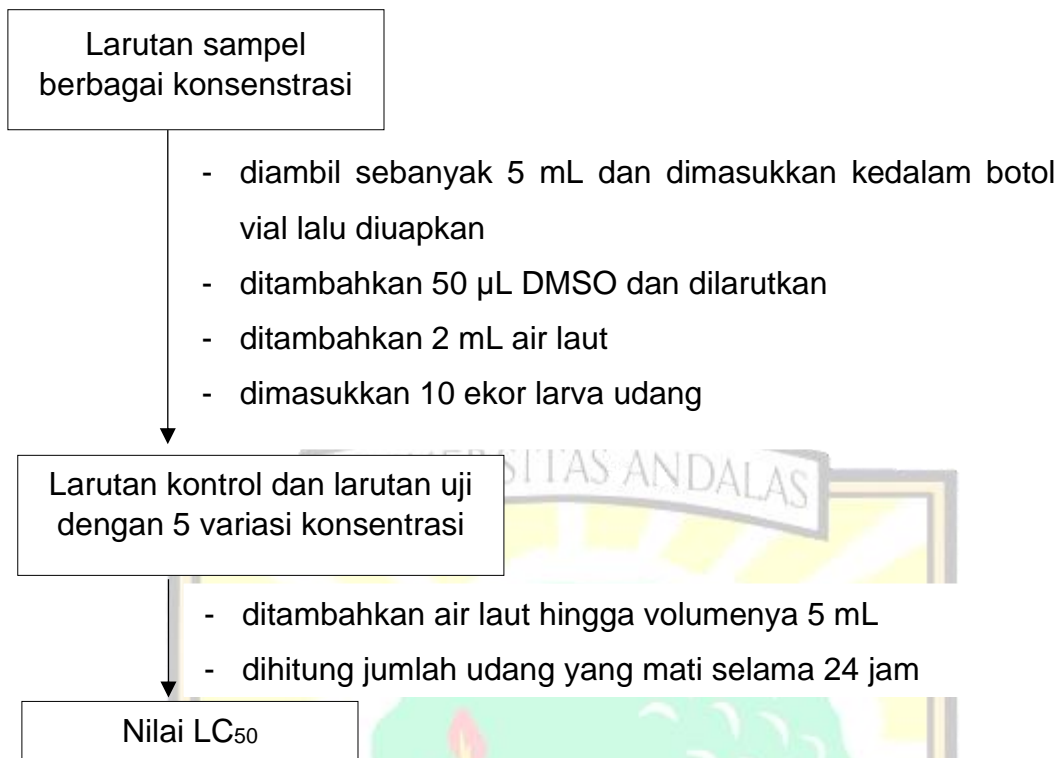
2. Pembuatan Larutan Uji Diklorometana Dengan Berbagai Konsentrasi




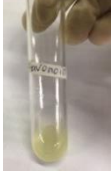
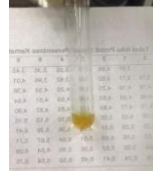


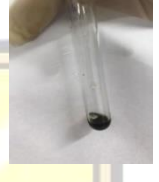


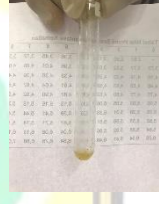
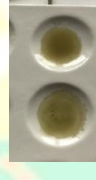


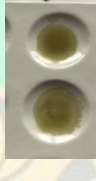




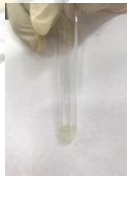
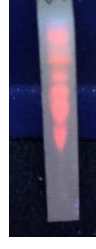


3. Pembuatan Larutan Uji 1-butanol Dengan Berbagai Konsentrasi



4. Pengujian Sitotoksik



Lampiran 8. Hasil Uji Fitokimia Sampel

No.	Kandungan Metabolit Sekunder	Foto Pengamatan dan Hasil		
		Daun Segar	Ekstrak Diklorometana	Ekstrak 1-Butanol
1	Flavonoid	 (+)	 (-)	 (+)
2	Fenolik	 (+)	 (+)	 (+)
3	Saponin	 (-)	 (-)	 (-)
4	Triterpenoid	 (-)	 (-)	 (-)
5	Steroid	 (+)	 (+)	 (+)
6	Alkaloid	 (-)	 (-)	 (-)
7	Kumarin	 (-)	 (-)	 (-)

Keterangan : + (mengandung metabolit sekunder)

- (tidak mengandung metabolit sekunder)

Lampiran 9. Persentase Ekstrak Sampel

No	Sampel	Massa Awal Sampel (g)	Massa Ekstrak (g)	Kadar (%)
1	Diklorometana	450	11,154	2,48
2	1-butanol	450	9,033	2,01

1. Kadar Ekstrak diklorometana dalam Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kandungan ekstrak} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{11,154 \text{ g}}{450 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 2,48\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar Ekstrak 1-butanol dalam Daun Tumbuhan Bunga Bangkai

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kandungan ekstrak} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{9,033 \text{ g}}{450 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 2,01\%
 \end{aligned}$$



Lampiran 10. Perhitungan Kandungan Fenolik Total

1. Pembuatan larutan standar

$$\text{Asam galat } 200 \text{ mg/L} = \frac{200 \text{ mg}}{\text{L}} \times 50 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 10 \text{ mg}$$

Pengenceran untuk membuat larutan standar dalam labu 10 mL

- 10 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 200 \text{ mg/L} = 10 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Volume (mL)
1	10	0,5
2	40	2
3	80	4
4	120	6
5	160	8

2. Pembuatan Larutan Ekstrak diklorometana dan 1-butanol

- Ekstrak diklorometana

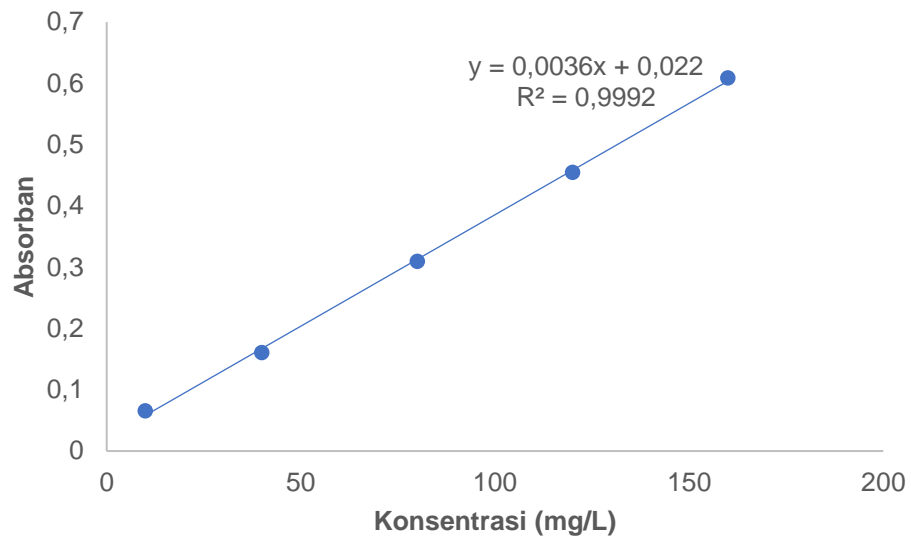
$$\text{Ekstrak } 1000 \text{ mg/L} = \frac{1000 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

- Ekstrak 1-butanol

$$\text{Ekstrak } 1000 \text{ mg/L} = \frac{1000 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

3. Data pengukuran asam galat

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorban
1	10	0,066
2	40	0,161
3	80	0,310
4	120	0,455
5	160	0,609



Kurva kalibrasi standar asam galat

4. Data pengukuran sampel

No	Ekstrak	Absorban
1	Diklorometana	0,199
2	1-butanol	0,261

5. Perhitungan kadar fenolik total

a. Ekstrak diklorometana

$$y = 0,0036x + 0,022$$

$$0,199 = 0,0036x + 0,022$$

$$x = 49,167 \text{ mg GAE/L}$$

$$\text{Fenolik Total} = \frac{49,167 \text{ mg GAE}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 0,1 \text{ g}$$

$$= 49,167 \text{ mg GAE/g}$$

b. Ekstrak 1-butanol

$$y = 0,0036x + 0,022$$

$$0,261 = 0,0036x + 0,022$$

$$x = 66,389$$

$$\text{Fenolik Total} = \frac{\frac{66,389 \text{ mg GAE}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL}}{0,1 \text{ g}}$$

$$= 66,389 \text{ mg GAE/g}$$

Tabel kadar fenolik fenolik total ekstrak diklorometana dan 1-butanol

No	Ekstrak	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	mg GAE/g sampel
1	Diklorometana	1000	0,199	49,167
2	1-Butanol	1000	0,262	66,389



Lampiran 11. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

$$\begin{aligned}
 0,1 \text{ mM} &= 1 \times 10^{-4} \text{ M} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol/L} \\
 x \text{ mg/L} &= 1 \times 10^{-4} \text{ mol/L} \times 394,33 \text{ g/mol} \\
 &= 0,039433 \text{ g/L} \\
 &= 39,433 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Massa DPPH} &= \frac{39,433 \text{ mg}}{\text{L}} \times 250 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \\
 &= 9,85825 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

2. Pembuatan larutan ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai dan asam askorbat

a. Ekstrak diklorometana

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{1000 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

b. Ekstrak 1-butanol

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{1000 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

b. Asam askorbat

$$100 \text{ mg/L} = \frac{100 \text{ mg}}{\text{L}} \times 50 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 5 \text{ mg}$$

3. Pengenceran untuk membuat larutan ekstrak daun tumbuhan bunga bangkai dan asam askorbat

a. Pengenceran ekstrak diklorometana

- 900 mg/L dalam labu 10 mL

$$\begin{aligned}
 V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\
 10 \text{ mL} \cdot 900 \text{ mg/L} &= V_2 \cdot 1000 \text{ mg/L} \\
 V_2 &= 9 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Volume (mL)
1	900	9
2	800	8
3	700	7
4	600	6
5	500	5

b. Pengenceran ekstrak 1-butanol

- 700 mg/L dalam labu 10 mL

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$10 \text{ mL} \cdot 700 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 1000 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 9 \text{ mL}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Volume (mL)
1	700	7
2	600	6
3	500	5
4	400	4
5	300	3
6	200	2

c. Pengenceran asam askorbat

- 10 mg/L dalam labu 50 mL

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 100 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 5 \text{ mL}$$

- 9 mg/L dalam labu 10 mL

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$10 \text{ mL} \cdot 9 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 10 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 9 \text{ mL}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Volume (mL)
1	9	9
2	8	8
3	7	7
4	6	6
5	5	5
6	4	4

4. Penentuan persen inhibisi

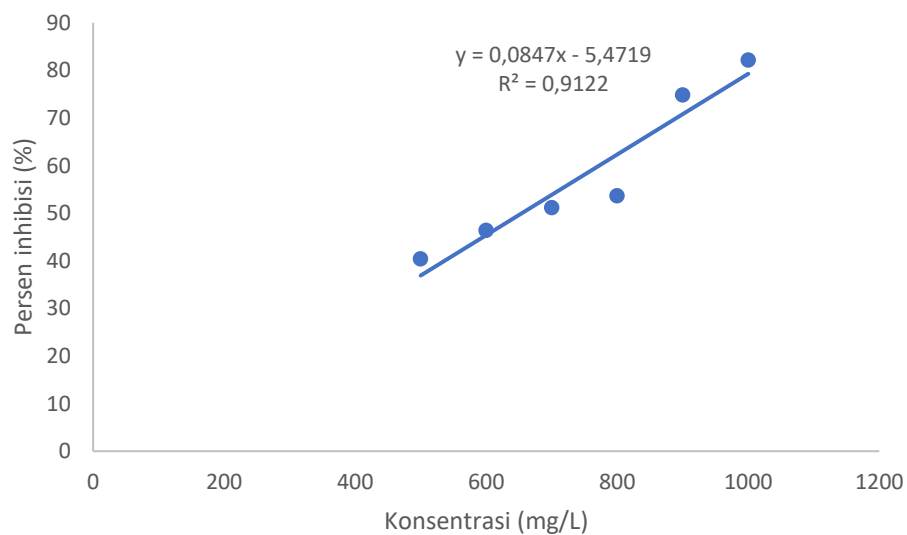
$$\text{Inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

a. Ekstrak diklorometana

- 500 mg/L

$$\begin{aligned} \text{Persen inhibisi} &= \frac{0,651 - 0,388}{0,651} \times 100\% \\ &= 40,399\% \end{aligned}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	Inhibisi (%)
1	500	0,388	40,399
2	600	0,349	46,390
3	700	0,318	51,152
4	800	0,302	53,610
5	900	0,164	74,808
6	1000	0,116	82,181



Kurva aktivitas antioksidan diklorometana

Penentuan nilai IC_{50} ekstrak diklorometana

Regresi $y = 0,0847x - 5,4719$

IC_{50} : $50 = 0,0847x - 5,4719$

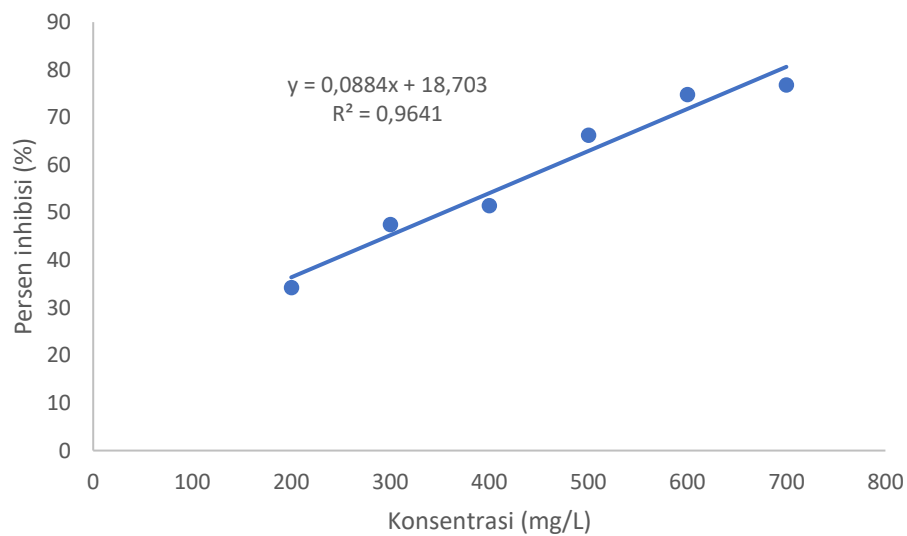
$x = 654,922 \text{ mg/L}$

b. Ekstrak 1-butanol

- 200 mg/L

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,651 - 0,428}{0,651} \times 100\% \\ &= 34,255\% \end{aligned}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	Inhibisi (%)
1	200	0,428	34,255
2	300	0,342	47,465
3	400	0,316	51,459
4	500	0,220	66,206
5	600	0,164	74,808
6	700	0,151	76,805



Kurva aktivitas antioksidan 1-butanol

Penentuan nilai IC_{50} ekstrak 1-butanol

Regresi $y = 0,0884x + 18,703$

IC_{50} : $50 = 0,0884x + 18,703$

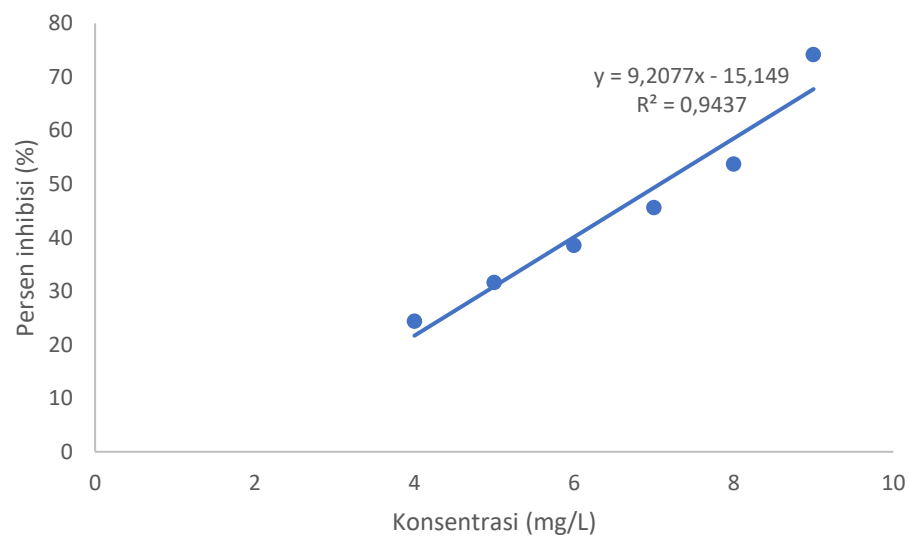
$x = 354,038 \text{ mg/L}$

c. Asam Askorbat

- 4 mg/L

$$\begin{aligned} \text{Inhibisi} &= \frac{0,651 - 0,492}{0,651} \times 100\% \\ &= 24,424\% \end{aligned}$$

No	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	Inhibisi (%)
1	4	0,492	24,424
2	5	0,445	31,644
3	6	0,400	38,556
4	7	0,354	45,622
5	8	0,301	53,763
6	9	0,168	74,193



Penentuan nilai IC_{50} asam askorbat

Regresi $y = 9,2077x - 15,149$

IC_{50} : $50 = 9,2077x - 15,149$

$x = 7,075 \text{ mg/L}$

5. Nilai IC₅₀ ekstrak Diklorometana, 1-Butanol dan Asam Askorbat

No	Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Absorban	Inhibisi %	Regresi	IC ₅₀ (mg/L)
1	Kontrol	-	0,651	-	-	-
2	Ekstrak Diklorometana	500	0,388	40,399	$y = 0,0847x - 5,4719$	654,922
		600	0,349	46,390		
		700	0,318	51,152		
		800	0,302	53,610		
		900	0,164	74,808		
		1000	0,116	82,181		
3	Ekstrak 1-Butanol	200	0,428	34,255	$y = 0,0884x + 18,703$	354,038
		300	0,342	47,465		
		400	0,316	51,459		
		500	0,220	66,206		
		600	0,164	74,808		
		700	0,151	76,805		
4	Asam Askorbat	4	0,492	24,424	$y = 9,2077x - 15,149$	7,075
		5	0,445	31,644		
		6	0,400	38,556		
		7	0,354	45,622		
		8	0,301	53,763		
		9	0,168	74,193		

Lampiran 12. Perhitungan Uji Aktivitas Sitotoksik

1. Pembuatan Larutan Variasi Konsentrasi untuk Uji Sitotoksik

- a. Larutan Induk Ekstrak Diklorometana (1000 mg/L)

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{1000 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

- b. Larutan Induk Ekstrak 1-Butanol (100 mg/L)

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{100 \text{ mg}}{\text{L}} \times 100 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 10 \text{ mg}$$

- c. Pengenceran Larutan Uji dari Ekstrak Diklorometana dalam labu 50 mL

- 500 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 500 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 1000 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 250 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 250 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 500 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 125 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 125 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 250 \text{ mg/L}$$

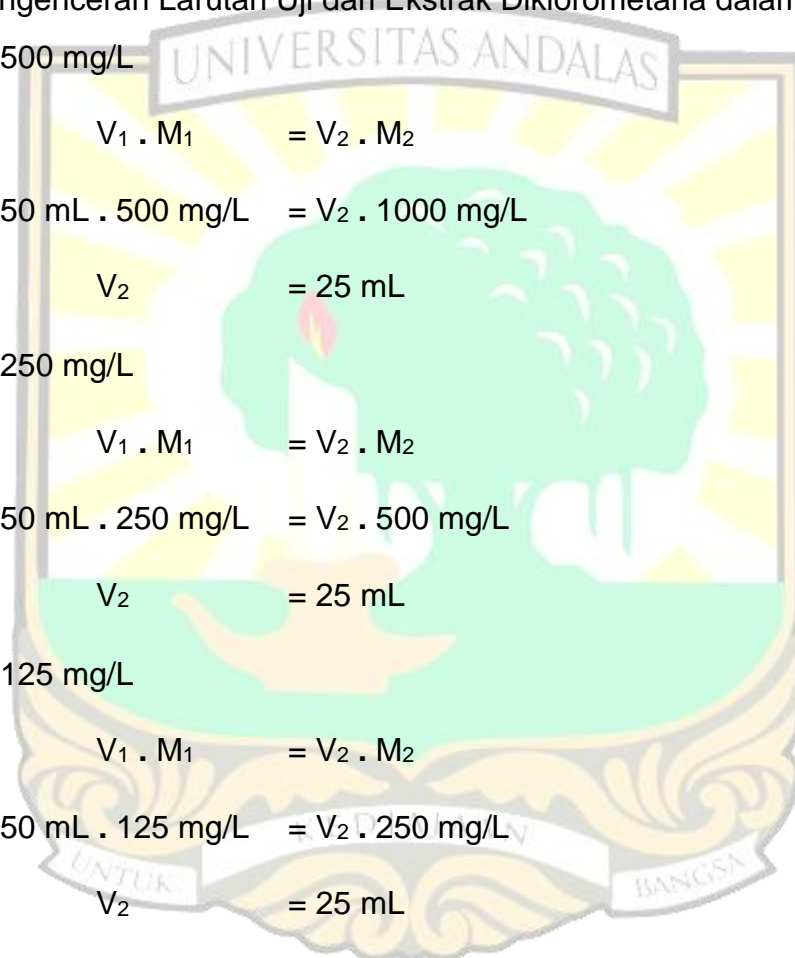
$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 62,5 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 62,5 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 125 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$



d. Pengenceran Larutan Uji dari Ekstrak Diklorometana dalam labu 50 mL

- 50 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 50 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 100 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 25 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 25 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 50 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 12,5 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 125 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 25 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

- 62,5 mg/L

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$50 \text{ mL} \cdot 6,25 \text{ mg/L} = V_2 \cdot 12,5 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

2. Penentuan Nilai LC₅₀

a. Tabel Nilai Probit Sesuai Persentase Kematian

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

- b. Tabel hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak diklorometana dan 1-butanol daun tumbuhan bunga bangkai

No	Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Total Larva yang mati (ekor)			Persen Kematian (%)	Nilai Probit	log C
			I	II	Rata- rata			
1	diklorometana	62,5	3	4	3,5	35	4,61	1,796
		125	6	6	6	60	5,25	2,097
		250	6	7	6,5	65	5,39	2,398
		500	8	8	8	80	5,84	2,699
		1000	8	9	8,5	85	6,04	3
2	1-butanol	6,25	1	1	1	10	3,72	0,796
		12,5	2	2	2	20	4,16	1,097
		25	3	4	3,5	35	4,33	1,398
		50	4	5	4,5	45	4,87	1,699
		100	6	6	6	60	5,23	2
3	Kontrol	0	0	0	0	0	0	0

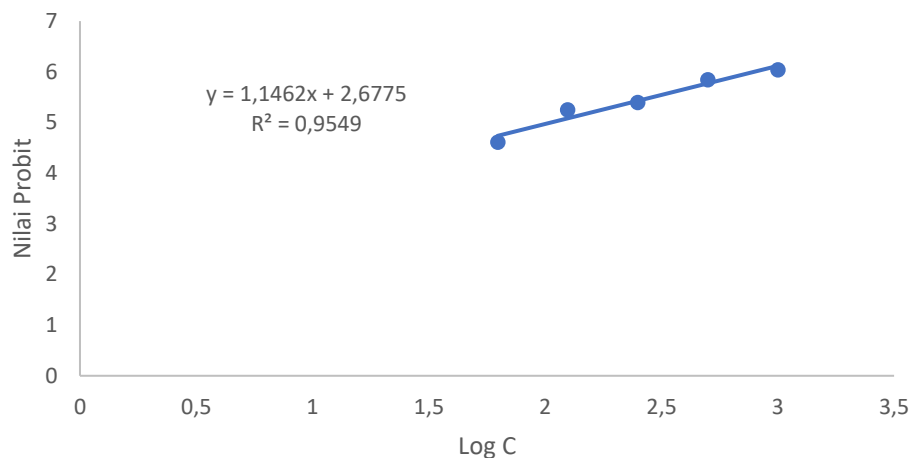
Keterangan: pengerjaan tiap konsentrasi dilakukan duplo dan larva yang dimasukkan ke dalam setiap vial berjumlah 10 ekor

- c. Perhitungan nilai LC_{50}

X = log konsentrasi

Y = Nilai Probit

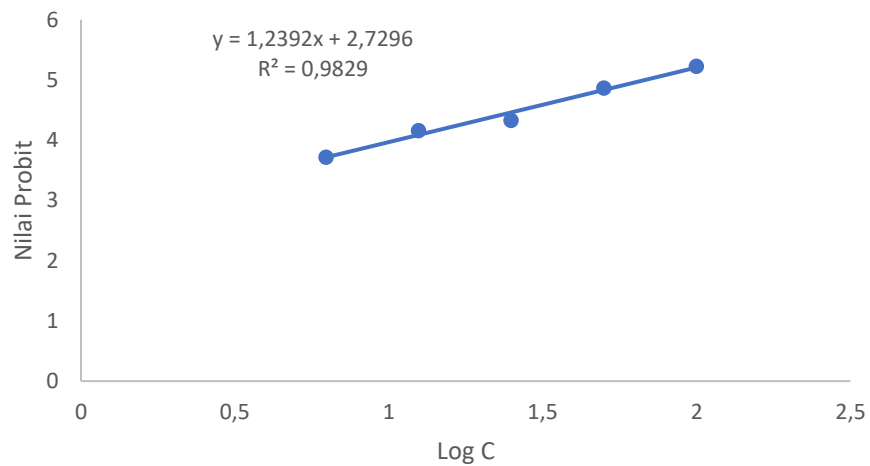
- LC_{50} Ekstrak Diklorometana



Kurva sitotoksik diklorometana

$$\begin{aligned}
 y &= 1,1462x + 2,6775 \\
 5 &= 1,1462x + 2,6775 \\
 x &= 2,026 \\
 LC_{50} &= 10^x \\
 &= 10^{22,026} \\
 &= 115,345 \text{ mg/L ekstrak diklorometana}
 \end{aligned}$$

- LC_{50} Ekstrak 1-butanol

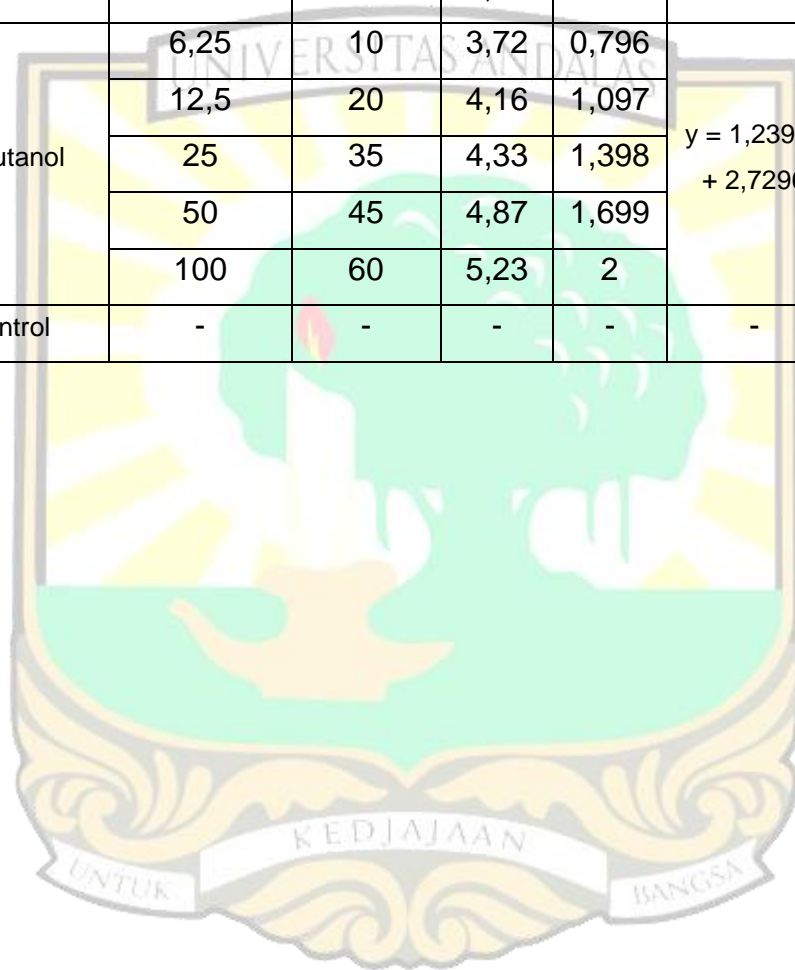


Kurva sitotoksik 1-butanol

$$\begin{aligned}
 y &= 1,2392x + 2,7296 \\
 5 &= 1,2392x + 2,7296 \\
 x &= 1,832 \\
 LC_{50} &= 10^x \\
 &= 10^{1,832} \\
 &= 62,464 \text{ mg/L ekstrak 1-butanol}
 \end{aligned}$$

3. Nilai LC₅₀ Ekstrak Diklorometana dan 1-Butanol

No	Ekstrak	Konsentrasi (mg/L)	Persen Kematian (%)	Nilai Probit	Log C	Regresi	LC ₅₀
1	Diklorometana	62,5	35	4,61	1,796	$y = 1,462x + 2,6775$	115,345
		125	60	5,25	2,097		
		250	65	5,39	2,398		
		500	80	5,84	2,699		
		1000	85	6,04	3		
2	1-Butanol	6,25	10	3,72	0,796	$y = 1,2392x + 2,7296$	62,464
		12,5	20	4,16	1,097		
		25	35	4,33	1,398		
		50	45	4,87	1,699		
		100	60	5,23	2		
3	Kontrol	-	-	-	-	-	-



BIODATA PENULIS

Nama : Rafil Hamdillah
 Tempat, Tanggal Lahir : Padang, 4 Maret 1997
 Jenis Kelamin : Laki-laki
 No. HP : 082387488816
 Asal Sekolah : SMA Negeri 14 Padang
 Orang Tua
 Nama Ayah : Raflis
 Pekerjaan : Sopir
 Nama Ibu : Fitri Hayati
 Pekerjaan : Ibu Rumah Tangga
 Anak Ke : 1 (Satu)
 Alamat : Jalan Jembatan Gantung RT 01 RW 07 Kelurahan
 Kampung Baru Nan XX
 Kode Pos : 25225
 Email : rafil.hamdillah123@gmail.com
 Visi Hidup : Menjadi pribadi bertaqwa kepada Allah SWT, memiliki kemampuan belajar hal-hal baru, membahagiakan orang tua, serta bermanfaat bagi keluarga, dan masyarakat.

