**LAMPIRAN**

**Lampiran 1.** Hasil Identifikasi Tumbuhan Peria Laut (*Colubrina asiatica* L.)

**Lampiran 2.** Bagan Alir Pembuatan Simplisia Daun Peria Laut

Daun Peria Laut

Dipisahkan dari pengotor

Dicuci dengan air mengalir hingga bersih

Diangin-anginkan terlebih dahulu diatas kertas perkamen

Dikeringkan dengan menggunakan lampu pijar

Ditimbang sebagai berat kering

Serbuk simplisia

Simplisia

Dihaluskan (diblender)

Pembuatan Ekstrak

Karakterisasi

Skrining Fitokimia

Senyawa Golongan :

1. Alakaloid
2. Flavonoid
3. Saponin
4. Tanin
5. Glikosida
6. Steroid/triterpenoid
7. Pemeriksaan makroskopik
8. Penetapan kadar air
9. Penetapan kadar sari larut dalam air
10. Penetapan kadar sari larut etanol
11. Penetapan kadar abu total
12. Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

**Lampiran 3.** Bagan Alir Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Peria Laut

200 g serbuk simplisia Daun Peria Laut

Dimasukkan 200 gram kedalam bejana, kemudian dituangkan 1500 mL etanol 70%

Ditutup dan di biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya matahari sambil sering diaduk

Setelah 5 hari campuran diserkai dan ampasnya diperas

Maserat

Dicuci ampasnya dengan cairan penyari etanol secukupnya sehingga diperoleh 100 bagian maserat

Dipindahkan kedalam bejana tertutup, dibiarkan ditempat yang sejuk terlindung dari cahaya selama 3 hari

Dienaptuangkan dan disaring

Diuapkan dengan *rotary evaporator* dipekatkan diatas *waterbath*

Ekstrak kental

**Lampiran 4.** Bagan Alir Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Konsentrasi 200 µg/mL

DPPH 20 mg

Dimasukkan dalam labu tentukur 100 mL

Dilarutkan dengan metanol dicukupkan sampai garis tanda

Dipipet 2 mL

Dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Konsentrasi 40 µg/mL

Diukur absorbansi pada kisaran Panjang gelombang 400-800 nm

λ max

**Lampiran 5.** Bagan Alir Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH

konsentrasi 200 µg/mL

Dipipet 2 mL Dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Waktu Kestabilan

Konsentrasi 40 µg/mL

Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516,00 nm hingga diperoleh waktu pengukuran stabil

**Lampiran 6.** Bagan Alir Uji Aktivitas Antioksidan Daun Peria Laut

dan Vitamin C

1000 mg Sampel

Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml Dilarutkan dengan metanol

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

LIB I (10000 µg/mL)

Dipipet sebanyak 0,15 mL, 0,3 mL, 0,45 mL, 0,6 mL dan 0,75 mL (150 µg/mL, 300 µg/mL, 450 µg/mL, 60 µg/mL, 750 µg/mL)

Dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 10 mL

Ditambahkan 2 mL DPPH

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Didiamkan berdasarkan *operating time*

kemudian diukur serapannya pada pada panjang gelombang 516,00 nm dengan spektrofometer UV-Vis

Hasil Pengukuran

**Lampiran 6.** (Lanjutan)

50 mg vit C

LIB I (1000 µg/mL)

LIB II 100 µg/mL

Dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL

Dilarutkan dengan metanol

Dicukupkan dengan metanol sampai

Garis tanda

Dipipet sebanyak 5 mL ke dalam labu ukur 50 mL

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Dipipet sebanyak 1 mL, 1.5 mL, 2 mL, 2.5 mL, 3 mL dan 3.5 mL. (10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL dan 35 µg/mL)

Dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 10 mL

Ditambahkan 1 mL DPPH

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Didiamkan berdasarkan *operating time* Diukur serapannya pada panjang gelombang 516,00 nm

dengan spektrofometer UV-Vis

Hasil Pengukuran

**Lampiran 7.** Daun Peria Laut



Makroskopik simplisia daun peria laut

Makroskopik daun peria laut segar



Ekstrak etanol daun peria laut

**Lampiran 8.** Karakterisasi Simplisia Daun Peria Laut



Penetapan kadar air



Penetapan kadar sari larut air

Penetapan kadar sari larut etanol



Penetapan kadar abu larut asam

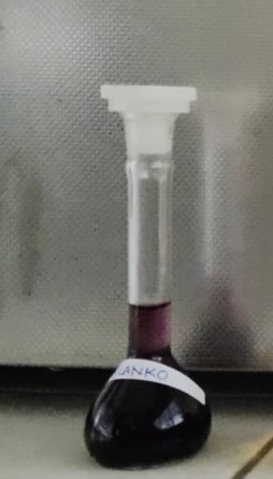
Penetapan kadar abu total

**Lampiran 9.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Peria Laut

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Gambar | Hasil skrining fitokimia | Keterangan |
| 1. | C:\Users\USER\Documents\SKRIPSI & JURNAL\Dokumentasi Penelitian\IMG-20210209-WA0011.jpg | Terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol.  Flavonoid (+) | Terbentuk warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid |
| 2. | C:\Users\USER\Documents\SKRIPSI & JURNAL\Dokumentasi Penelitian\IMG-20210209-WA0012.jpg | Terbentuk busa setinggi 5 cm dan tidak hilang setelah ditambah HCl 2 N.  Saponin (+) | Terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin |
| 3. | C:\Users\USER\Documents\SKRIPSI & JURNAL\Dokumentasi Penelitian\IMG-20210209-WA0014.jpg | Terbentuk warna hitam  Tanin (+) | Terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin |
|  | C:\Users\USER\Documents\SKRIPSI & JURNAL\Dokumentasi Penelitian\IMG-20210209-WA0009.jpg | Terbentuk endapan pada sampel yang ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorf. Alkaloid (+) | Rx.Mayer : terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning  Rx.Dragendorff : terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan  Rx. Bourchardat : tidak terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.  Hasil positif alkaloid jika dua diantara 3 uji positif |
|  | C:\Users\USER\Downloads\WhatsApp Image 2021-03-08 at 15.41.02.jpeg | Terbentuk warna merah muda di dasar tabung.  Triterpenoid (+) | Jika timbul warna biru aau hijau menunjukkan adanya steroid. Sedangkan merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid |
|  | C:\Users\USER\Downloads\WhatsApp Image 2021-04-04 at 11.36.33.jpeg | Terbentuk cincin ungu yang mudah hilang pada batas kedua cairan  Glikosida (+) | Terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya ikatan gula (glikosids) |

**Lampiran 10.** Larutan Induk Baku DPPH,Ekstrak Etanol Daun Peria Laut

dan Larutan Uji Dengan Berbagai Konsentrasi

LIB I Sampel

LIB I DPPH



Larutan uji daun peria laut

**Lampiran 11.** Alat Rotary Evaporator dan Spektrofotometer UV-Vis

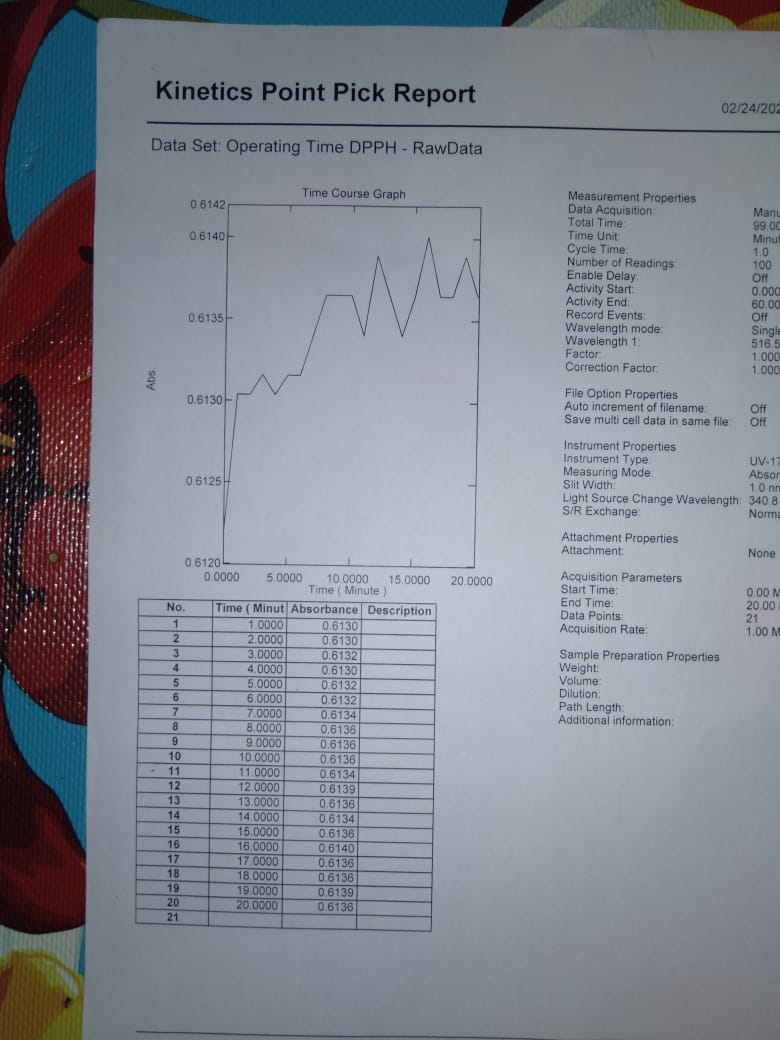


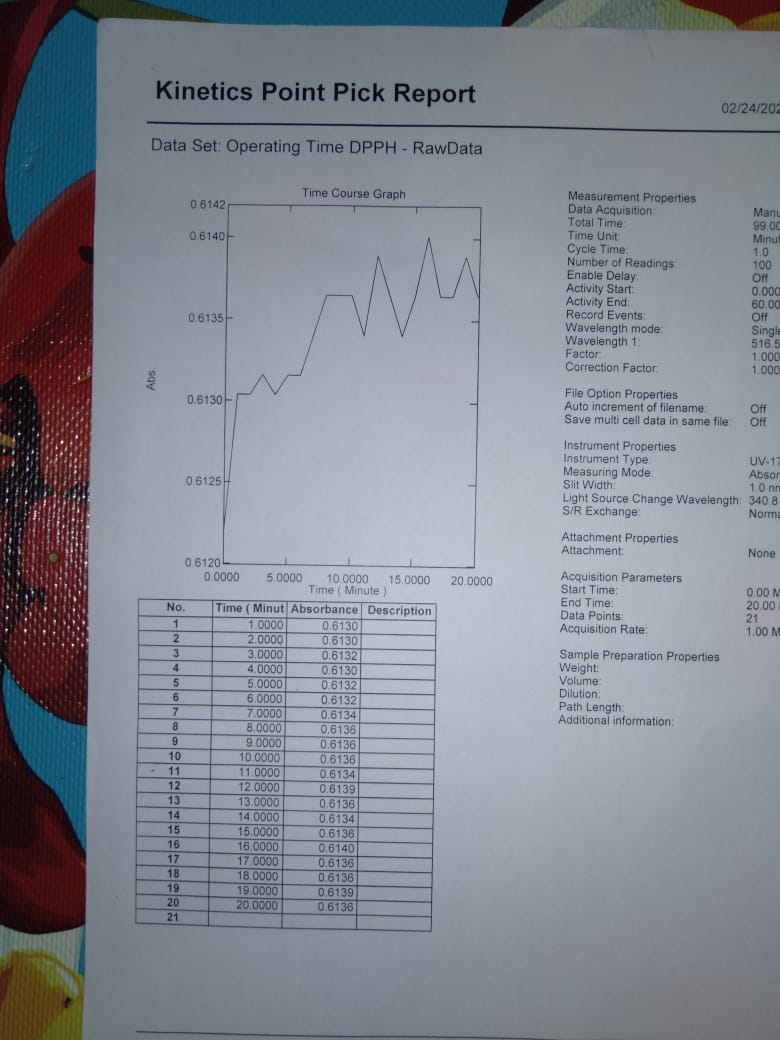
*Rotary Evaporator*



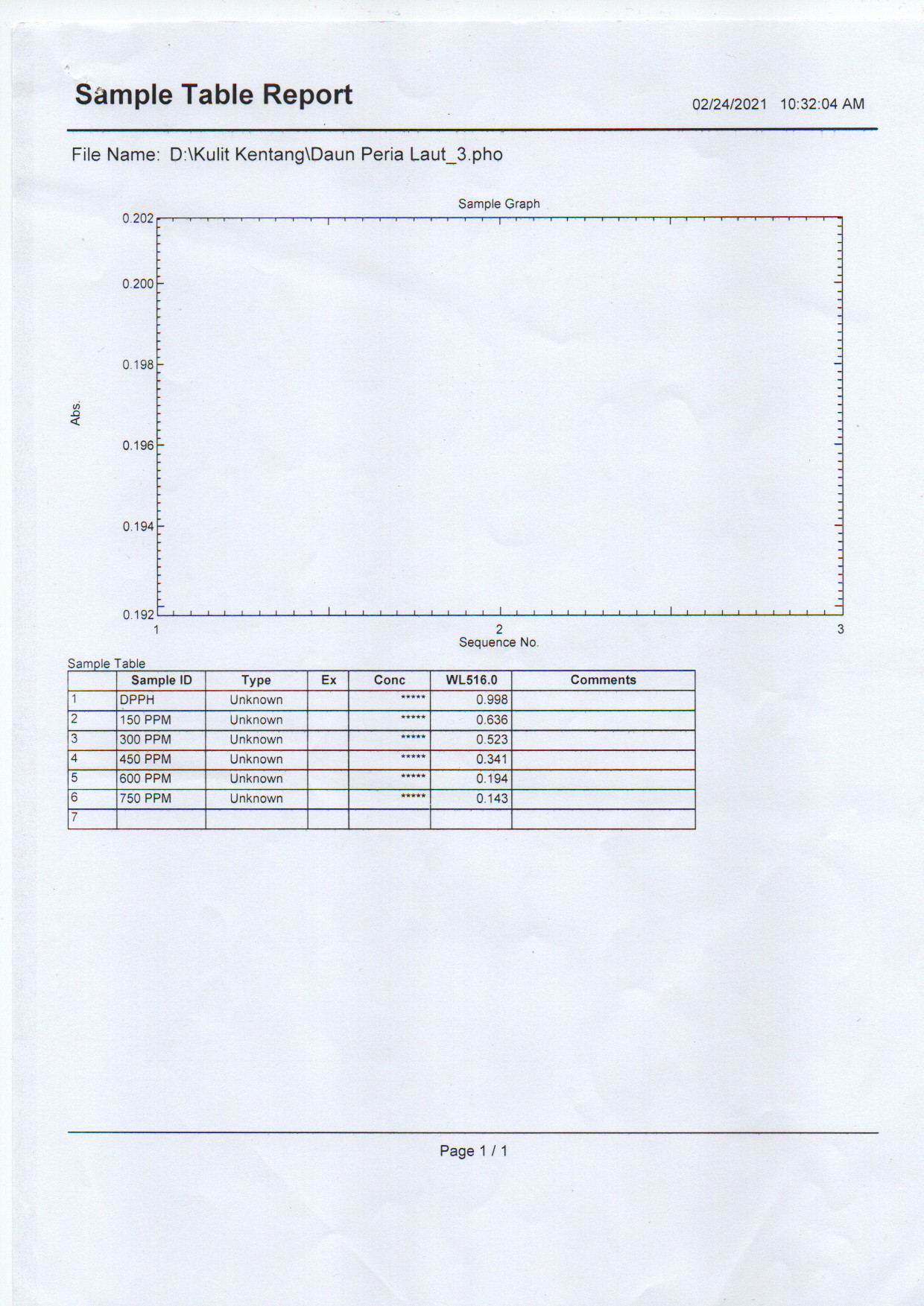
Spektofotometer UV-Vis

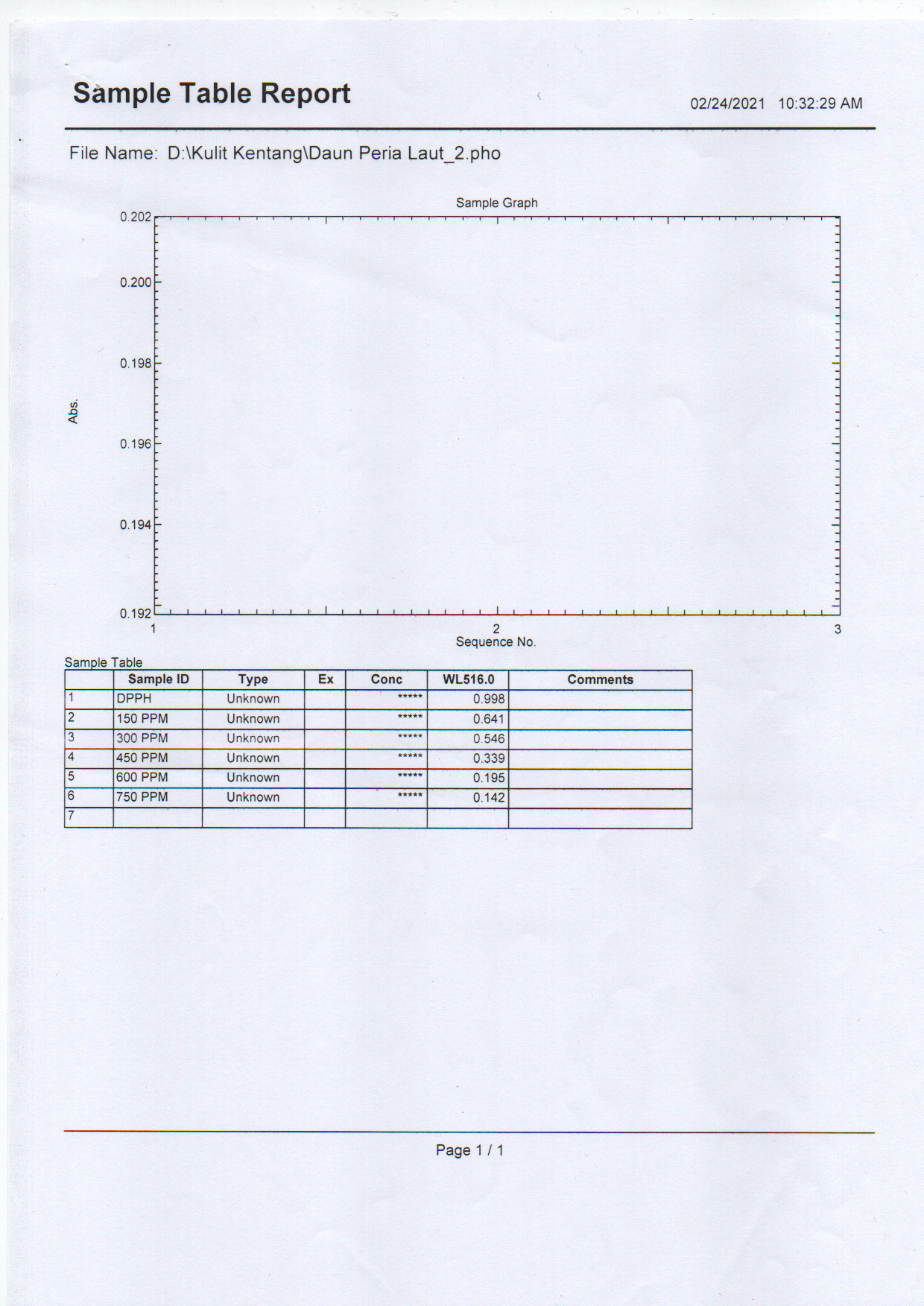
**Lampiran 12.** Kurva dan Data *Operating Time*

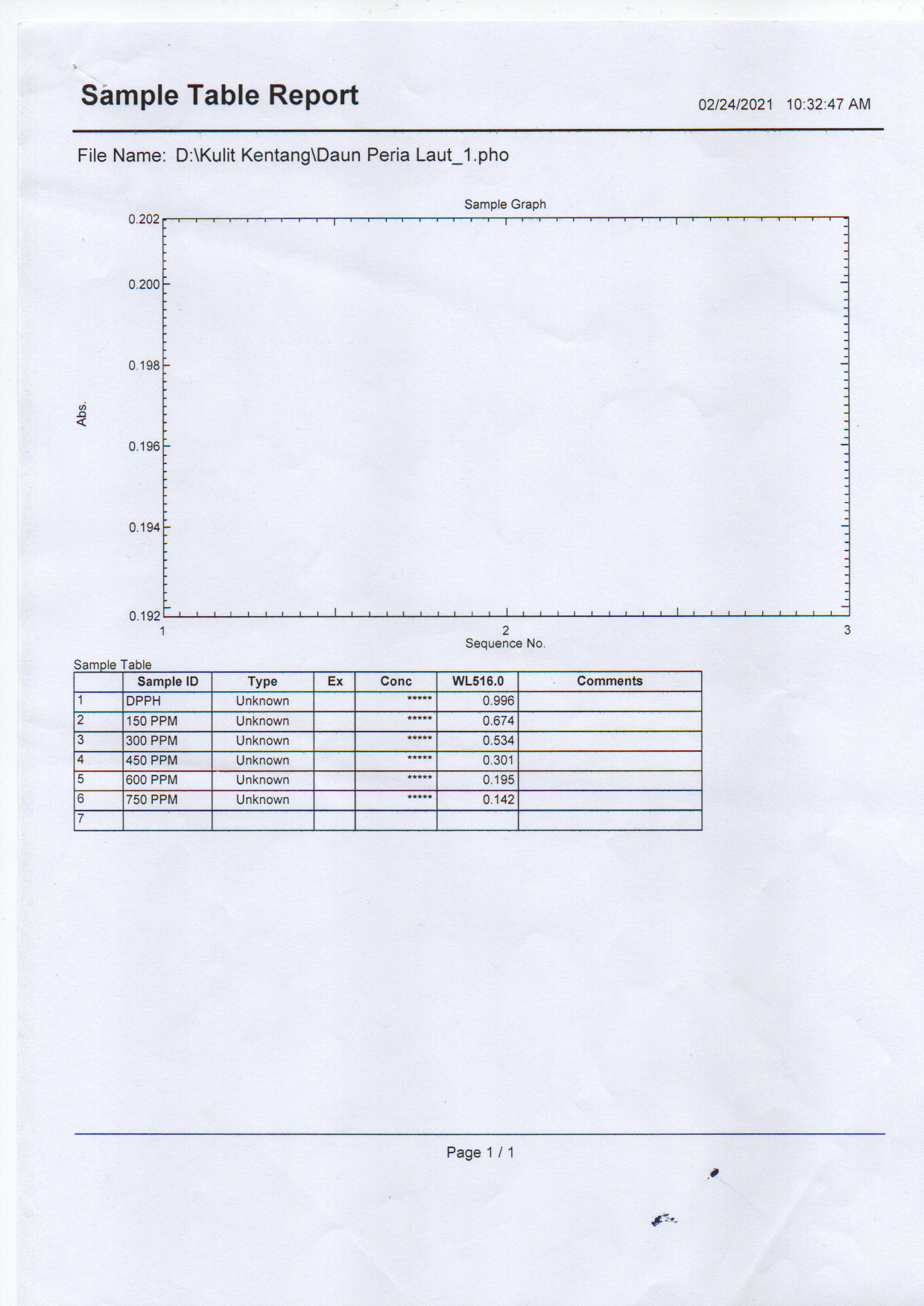




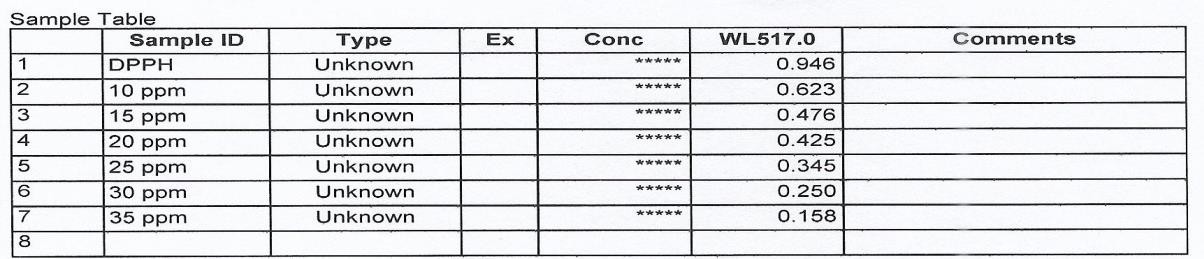
**Lampiran 13.** Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Ekstrak Etanol Daun Peria Laut

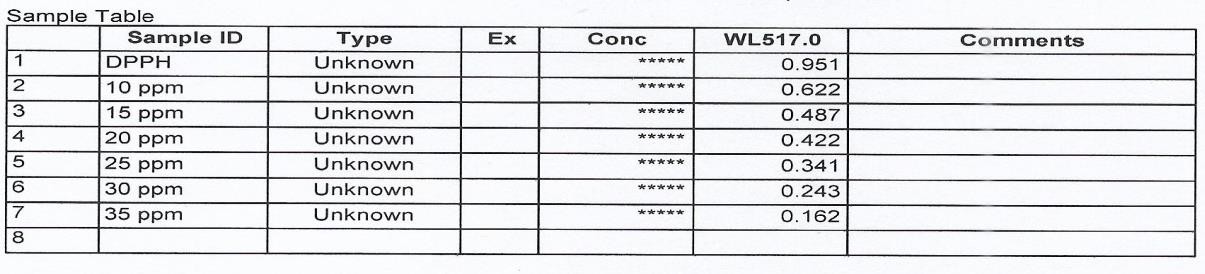


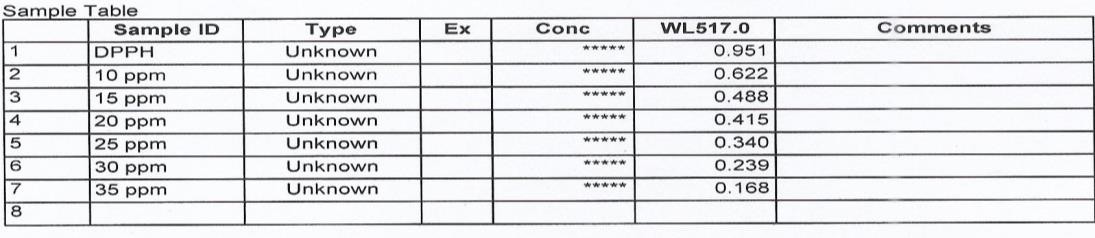




**Lampiran 14.** Hasil Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C







**Lampiran 15.** Perhitungan karakterisasi simplisia

1. Penetapan Kadar Air Simplisia

% Kadar air simplisia =

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Berat Sampel (g) | Volume Awal (mL) | Volume Akhir (mL) |
| 1. | 2,5 g | 0,8 | 1,0 |
| 2. | 2,5 g | 0,7 | 0,9 |
| 3. | 2,5 g | 0,9 | 1,2 |

x 100%

Kadar air I : x 100% = 8%

Kadar air II : x 100% = 8%

Kadar air IIII : x 100% = 8%

Kadar air rata-rata : = 8%

1. Penatapan Kadar Sari Larut Dalam Air

% Kadar sari larut dalam air =

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Berat Sampel (g) | Berat Sari (g) |
| 1. | 5 g | 0,3194 |
| 2. | 5 g | 0,3021 |
| 3. | 5 g | 0,3370 |

x 5 x 100%

Kadar sari larut dalam air I : x 5 x 100% = 31,94%

Kadar sari larut dalam air II : x 5 x 100% = 30,21%

Kadar sari larut dalam air III : x 5 x 100% = 33,70%

Kadar sari larut dalam air rata-rata : = 31,95%

1. Penatapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Berat Sampel (g) | Berat Sari (g) |
| 1. | 5 g | 0,1731 |
| 2. | 5 g | 0,1600 |
| 3. | 5 g | 0,1603 |

% Kadar sari larut dalam etanol=

x 5 x 100%

Kadar sari larut dalam etanol I : x 5 x 100% = 17,31%

Kadar sari larut dalam etanol II : x 5 x 100% = 16,00%

Kadar sari larut dalam etanol III : x 5 x 100% = 16,03%

Kadar Kadar sari larut dalam rata-rata : = 16,44%

1. Penatapan Kadar Abu Total

%Kadar abu total = x 100%

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Berat Sampel (g) | Berat Sari (g) |
| 1. | 2 g | 0,1025 |
| 2. | 2 g | 0,1015 |
| 3. | 2 g | 0,1020 |

Kadar abu total I : x 100% = 5,12%

Kadar abu total II : x 100% = 5,07%

Kadar abu total III : x 100% = 5,10%

Kadar abu total rata-rata : = 5,09%

**Lampiran 15.** (lanjutan)

1. Penatapan Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam

%Kadar abu tidak larut dalam asam = x 100%

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Berat Sampel (g) | Berat Sari (g) |
| 1. | 2 g | 0,0016 |
| 2. | 2 g | 0,0025 |
| 3. | 2 g | 0,0019 |

Kadar abu total tidak larut asam I : x 100% = 0,08%

Kadar abu total tidak larut asam II : x 100% = 0,125%

Kadar abu total tidak larut asam III : x 100% = 0,095%

Kadar abu total tidak larut asam rata-rata : = 0,1%

**Lampiran 16.** Perhitungan Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. **Ekstrak Etanol Daun Peria Laut**
   1. Tabel data absorbansi % perendaman radikal bebas ekstrak etanol daun peria laut

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Konsentrasi larutan  uji (µg/mL) | Pengukuran Absorbansi | | | Rata-Rata  (A) | %  Peredaman |
| 1 | 2 | 3 |
| 1 | DPPH | 0,996 | 0,998 | 0,998 | 0,99733 | - |
| 2 | 150 | 0,674 | 0,641 | 0,636 | 0,65033 | 34,79289 % |
| 3 | 300 | 0,534 | 0,546 | 0,523 | 0,53433 | 46,42395 % |
| 4 | 450 | 0,301 | 0,339 | 0,341 | 0,327 | 67,21245 % |
| 5 | 600 | 0,195 | 0,195 | 0,194 | 0,19466 | 80,48188 % |
| 6 | 750 | 0,142 | 0,142 | 0,143 | 0,14233 | 85,73190 % |

% peredaman = A kontrol – A sampel × 100

A kontrol

Keterangan:

A kontrol = Absorbansi blanko

A sampel = Absorbansi sampel

# Perhitungan % peredaman ekstrak etanol daun peria laut

* + 1. Konsentrasi 150 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 34,79289%

* + 1. Konsentrasi 300 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 46,42395%

* + 1. Konsentrasi 450 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 67,21245%

* + 1. Konsentrasi 600 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 80,48188%

* + 1. Konsentrasi 750 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 45,73190%

**Lampiran 16.** (Lanjutan)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Konsentrasi larutan  (µg/mL) | Y  (%Peredaman) | XY | X2 | Y2 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150 | 34,79289 | 5218,9333 | 22500 | 1210,54519 |
| 300 | 46,42395 | 13927,185 | 90000 | 2155,18313 |
| 450 | 67,21245 | 30245,602 | 202500 | 4517,51343 |
| 600 | 80,48188 | 48289,128 | 360000 | 6477,33300 |
| 750 | 85,73190 | 64298,925 | 562500 | 7349,95867 |
| ∑X = 2250 | ∑Y = 314,64307 | ∑XY = 161979,7739 | ∑X2 = 1237500 | ∑Y2 = 21710,53334 |
| x̅ = 375 | ӯ = 55,44051 |

* 1. Tabel data perhitungan IC50 ekstrak etanol daun peria laut

Keterangan: X = Konsentrasi (µg/mL)

Y = % Peredaman

* Nilai a = (∑𝑋𝑌)− (∑𝑋)(∑𝑌)/𝑛

(∑𝑋2) − (∑𝑋)2/n

= (161979,7739)−(2250)(314,64307)/6

(1237500)− (2250)2/ 6

= 161979,7739–117991,125

1237500 −843750

= 43988,6489

393750

= 0,11171

* Nilai b = ӯ - ax̅

= (55,44051) - (0,11171) (375)

= 55,44051– 41,89125

= 13,43755

* Nilai r = (∑𝑋𝑌)− (∑𝑋)(∑𝑌)/ 𝑛

√(∑𝑋2)− (∑𝑋)2/ 𝑛 (∑𝑌2)−(∑𝑌)2 / 𝑛

= (161979,7739) − (2250) (314,64307)/6

√(1237500) − (2250)2/6 (21710,53334) − (314,64307)2 /6

= (769948,5) − (626898,333)

√(1237500)− (843750) (21710,53334) − (16500,04358)

= 43988,6489

√(39750)(5210,48976)

= 143050,167

√(2051790930)

= 43988,6489

45296,69888

= 0,97112

Persamaan Regresi = Y = a x + b

Y = 0,11171 x + 13,43755

Nilai IC 50 =Y = 0,11171 x + 13,43755

= 327,2979 µg/mL

**Lampiran 17.** (Lanjutan)

# Vitamin C

* 1. Tabel data absorbansi % perendaman radikal bebas vitamin C

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Konsentrasi larutan  (µg/mL) | Pengukuran Absorbansi | | | Rata-Rata  (A) | %  Peredaman  Perendaman |
| 1 | 2 | 3 |
| 1 | DPPH | 0,946 | 0,951 | 0,951 | 0.949 | - |
| 2 | 10 | 0,623 | 0,622 | 0,622 | 0,622 | 34,457 % |
| 3 | 15 | 0,476 | 0,487 | 0,488 | 0,483 | 49,104 % |
| 4 | 20 | 0,425 | 0,422 | 0,415 | 0,420 | 55,742 % |
| 5 | 25 | 0,345 | 0,341 | 0,340 | 0,342 | 63,962 % |
| 6 | 30 | 0,250 | 0,243 | 0,239 | 0,244 | 74,288 % |
| 7 | 35 | 0,158 | 0,162 | 0,168 | 0,162 | 82,929 % |

% peredaman = A kontrol – A sampel × 100

A kontrol

Keterangan:

A kontrol = Absorbansi blanko

A sampel = Absorbansi sampel

# Perhitungan % peredaman vitamin C

* + 1. Konsentrasi 10 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 34,457%

* + 1. Konsentrasi 15 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 49,104%

* + 1. Konsentrasi 20 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 55,742%

* + 1. Konsentrasi 25 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 63,962%

* + 1. Konsentrasi 30 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 74,288%

* + 1. Konsentrasi 35 µg/mL

%Peredaman = x 100% = 82,929%

**Lampiran 18.** (Lanjutan)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| C  (Konsentrasi µg/mL) | Y  (%Peredaman) | XY | X2 | Y2 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 34,457 | 344,57 | 100 | 1187,284849 |
| 15 | 49,104 | 736,56 | 225 | 2411,202816 |
| 20 | 55,742 | 1114,84 | 400 | 3107,170564 |
| 25 | 63,962 | 1599,05 | 625 | 4091,137444 |
| 30 | 74,288 | 2228,64 | 900 | 5518,706944 |
| 35 | 82,929 | 2902,515 | 1225 | 6877,219041 |
| ∑X = 135 | ∑Y = 360,482 | ∑XY = 8926,175 | ∑X2 = 3475 | ∑Y2 = 23192,721658 |
| x̅ = 19,285 | ӯ = 51,497 |

* 1. Tabel data perhitungan IC50 vitamin C

Keterangan: X = Konsentrasi (µg/mL)

Y = % Peredaman

* Nilai a = (∑𝑋𝑌)− (∑𝑋)(∑𝑌)/𝑛

(∑𝑋2) − (∑𝑋)2/n

= (8926,175)−(135)(360,482)/7

(3475)− (135)2/ 7

= 8926,175–6952,152

3475 – 2603,571

= 1974,023

871,429

= 2,2652

* Nilai b = ӯ - ax̅

= (51,497) - (2,2652) (19,285)

= 51,497 – 43,684

= 7,813

* Nilai r = (∑𝑋𝑌)− (∑𝑋)(∑𝑌)/ 𝑛

√(∑𝑋2)− (∑𝑋)2/ 𝑛 (∑𝑌2)−(∑𝑌)2 / 𝑛

= (8926,175) − (135) (360,482)/7

√(3475) − (135)2/7 (23192,721658) − (360,482)2 /7

= (8926,175) − (6952,152)

√(3475)− (2603,571) (23192,721658) − (18563,896)

= 1974,023

√(871,429)(4628,825658)

= 1974,023

√(4033692,91433)

= 1974,023

2008,405

= 0,9828

Persamaan Regresi = Y = a x + b

Y = 2,2652 x + 7,813

Nilai IC 50 = Y = 2,2652 x + 7,813

= 18,623µg/mL

.