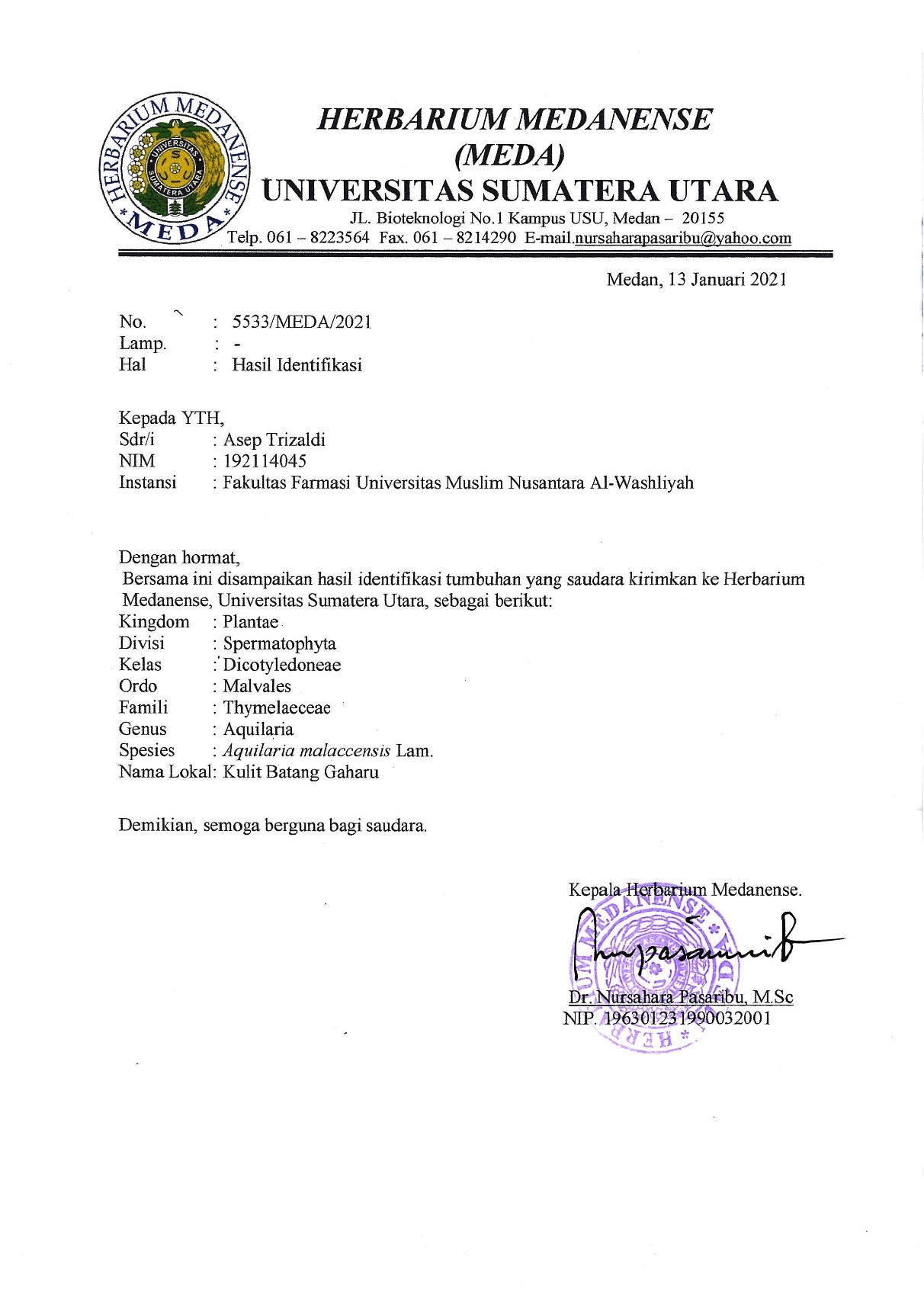
**Lampiran 1.**Hasil Identifikasi Tumbuhan Gaharu



**Lampran 2.** Bahan Uji Gaharu

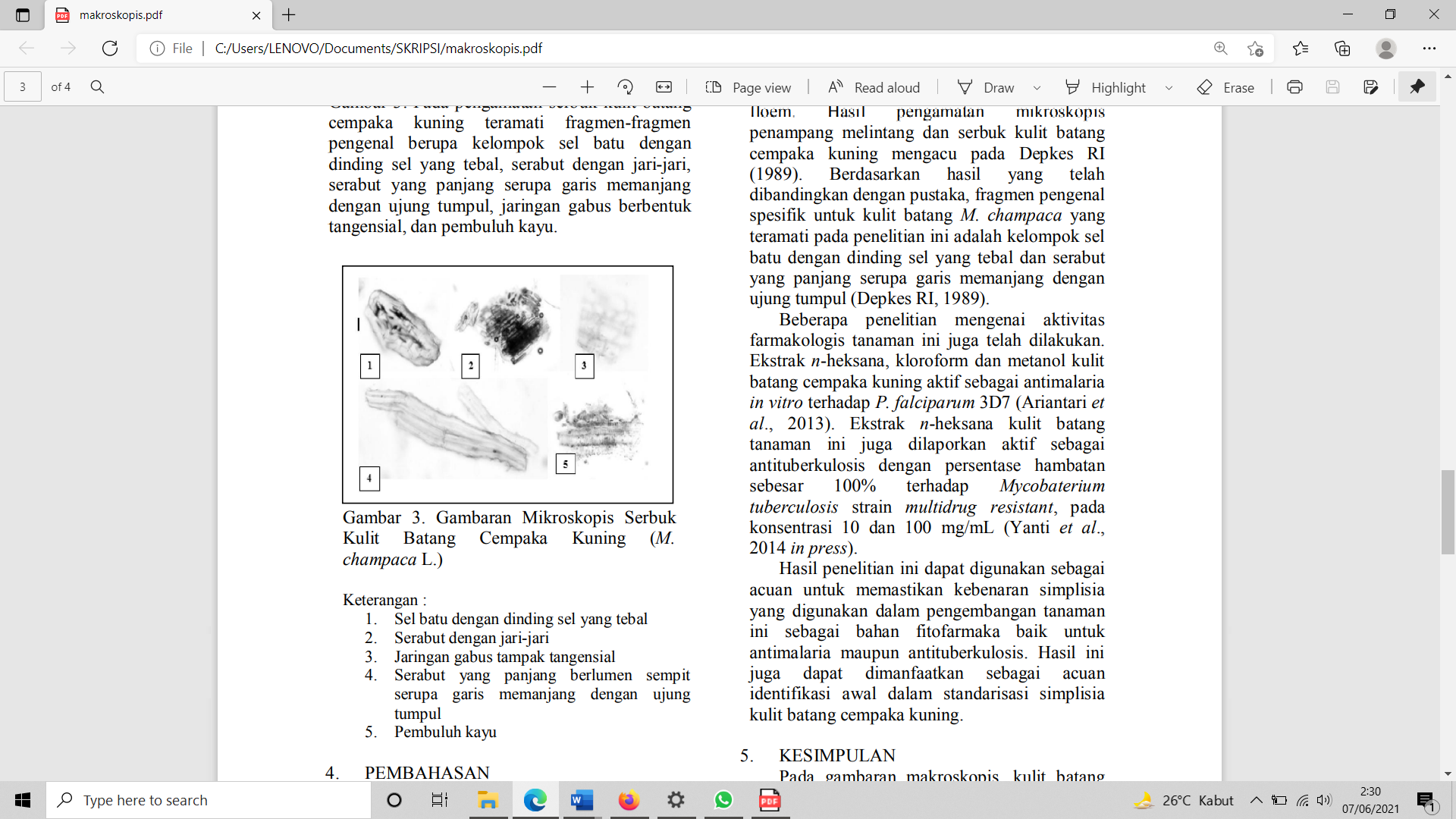
** **

**Pohon gaharu Kulit Batang Gaharu**



Ekstrak Metanol Kulit Batang Gaharu

**Lampran 3.** Mikroskop serbuk kulit batang gaharu



Keterangan :

1. Sel batu dengan dinding sel yang tebal

2. Serabut dengan jari-jari

3. Jaringan gabus tampak tangensial

4. Serabut yang panjang berlumen sempit serupa garis memanjang dengan ujung tumpul

5. Pembuluh kayu

**Lampiran 4.** Alat Spektrofotometer UV-Vis



1. Spektrofotometer UV-Vis



1. Kuvet

Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Gaharu

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Pengujian** | **Hasil Pengamatan** | **Keterangan** |
| Alkaloid |  | (-) |
| Flavonoid |  | (+) |
| Saponin |  | (+) |
| Tanin |  | (+) |
| Steroid |  | (-) |
| glikosida |  | (-) |

**Lampiran 6.** Perhitungan Karakterisasi Simplisia Kulit Batang Gaharu

* + - 1. **Hasil penetapan kadar air Kulit batang gaharu**

Pengulangan 1

Volume air awal (V1) = 8 tetes

V1  =

= 0,4 mL

Volume air akhir (V2) = 11 tetes

V2 =

= 0,55 mL

Kadar air =

= 6%

Pengulangan 2

Volume air awal (V1) = 4 tetes

V1  =

= 0,2 mL

Volume air akhir (V2) = 7 tetes

V2 =

= 0,35 mL

Kadar air =

= 6%

Pengulangan 3

Volume air awal (V1) = 7 tetes

V1  =

= 0,35 mL

Volume air akhir (V2) = 10 tetes

V2 =

= 0,5 mL

Kadar air =

= 4%

Rata-rata kadar air =

= 6%

Memenuhi persyaratan tidak lebih dari 10 %.

1. **Hasil penetapan kadar sari larut air Kulit batang gaharu**

% Kadar sari larut air = x 100%

Berat Sari setelah dikeringkan =

Pengulangan 1

% Kadar larut air x 100%

x 100%

x 100%

Pengulangan 2

% Kadar larut air x 100%

= x 100%

x 100%

%

Pengulangan 3

% Kadar larut air x 100%

x 100%

x 100%

Rata-Rata = = 5,33 %

Memenuhi persyaratan tidak kurang dari 4,5%

1. **Hasil penetapan kadar sari larut etanol kulit batang gaharu**

% Kadar Larut Etanol = x 100%

Berat Sari setelah dikeringkan =

Pengulangan 1

% Kadar Larut Etanol x 100%

= x 100%

= x 100%

=

Pengulangan 2

% Kadar Larut Etanol x 100%

= x 100%

= x 100%

=

Pengulangan 3

% Kadar Larut Etanol = x 100%

= x 100%

= x 100%

Rata-Rata = = 0,64%

Memenuhi syarat tidak kurang dari 0,5%

1. **Hasil penetapan kadar abu total kulit batang gaharu**

% Kadar Abu = x 100%

Berat abu yang diperoleh =

Pengulangan 1

% Kadar Abu = x 100%

x 100%

=

Pengulangan 2

% Kadar Abu = x 100%

= x 100%

%

Pengulangan 3

% Kadar Abu = x 100%

= x 100%

=

Rata-Rata = = 2,13%

Memenuhi persyaratan tidak lebih dari 3,5%

1. **Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam kulit batang gaharu**

% Kadar Abu tidak Larut Asam = x 100%

Berat abu yang diperoleh =

Pengulangan 1

% Kadar Abu tidak Larut Asam = x 100%

= x 100%

=

Pengulangan 2

% Kadar Abu tidak Larut Asam = x 100%

= x 100%

= %

Pengulangan 3

% Kadar Abu tidak Larut Asam = x 100%

x 100%

=

Rata-Rata = = 0,63%

Memenuhi persyaratan tidak lebih dari 1%

**Lampiran 7**. Bagan Alir Penelitian

Kulit batang gaharu

Simplisia1,3 kg

Serbuk Simplisia 1.1 kg

Diserbukkan

Dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 40ºC

Dibersihkan dari pengotoran

1. Alkaloida
2. Tanin
3. Flavonoida
4. Saponin
5. Glikosida
6. Triterpenoid/steroid

Skrining fitokimia

Kadar air

Kadar sari larut air

Kadar sari larut etanol

Kadar abu total

Kadar abu tidak larut asam

Karakteristik simplisia

Ekstrak Kental

Nilai IC50

Uji antioksidan

Maserat

6%

Pembuatan ekstrak

**Lampiran** **8.** Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Ekstrak Metanol Kulit Batang Gaharu

Ekstrak Metanol Kulit Batang Gaharu 50 mg

Larutan Induk 1000 µg/mL

Dimasukan ke dalam labu tekur 50 mL

Dilarutkan dengan metanol

Dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda

Pipet masing-masing0,50 mL; 1,00 mL; 1,50 mL; 2,00 mL; dan 2,50 mL

Dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL

Ditambahkan 2,00 mL DPPH konsentrasi 500 µg/mL

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Konsentrasi 20 µg/mL

Konsentrasi 40 µg/mL

Konsentrasi 60 µg/mL

Konsentrasi 80 µg/mL

Konsentrasi 100 µg/mL

Didiamkan selama 3 menit lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm

Hasil Pengukuran Absorbansi

Dihitung persen inhibisi dan IC50

Diperoleh data kekuatan sebagai antioksidan

**Lampiran 9.** Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

20 mg Vitamin C baku

Dipipet masing-masing 1 mL; 2 mL; 3 mL; 4 mL; dan 5 mL

Dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL

Ditambahkan 2 mL DPPH dari konsentrasi 50 µg/mL

Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda

Larutan Induk II Vitamin C (100 µg/mL)

Dipipet 5 mL

Dimasukkan dalam labu tentukur 25 mL

Dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda

Larutan Induk I Vitamin C (400 µg/mL)

Dimasukkan dalam labu tentukur 50 mL

Dilarutkan dengan metanol

Dicukupkan sampai garis tanda

Konsentrasi 20 µg/mL

Konsentrasi 16 µg/mL

Konsentrasi 12 µg/mL

Konsentrasi 8 µg/mL

Konsentrasi 4 µg/mL

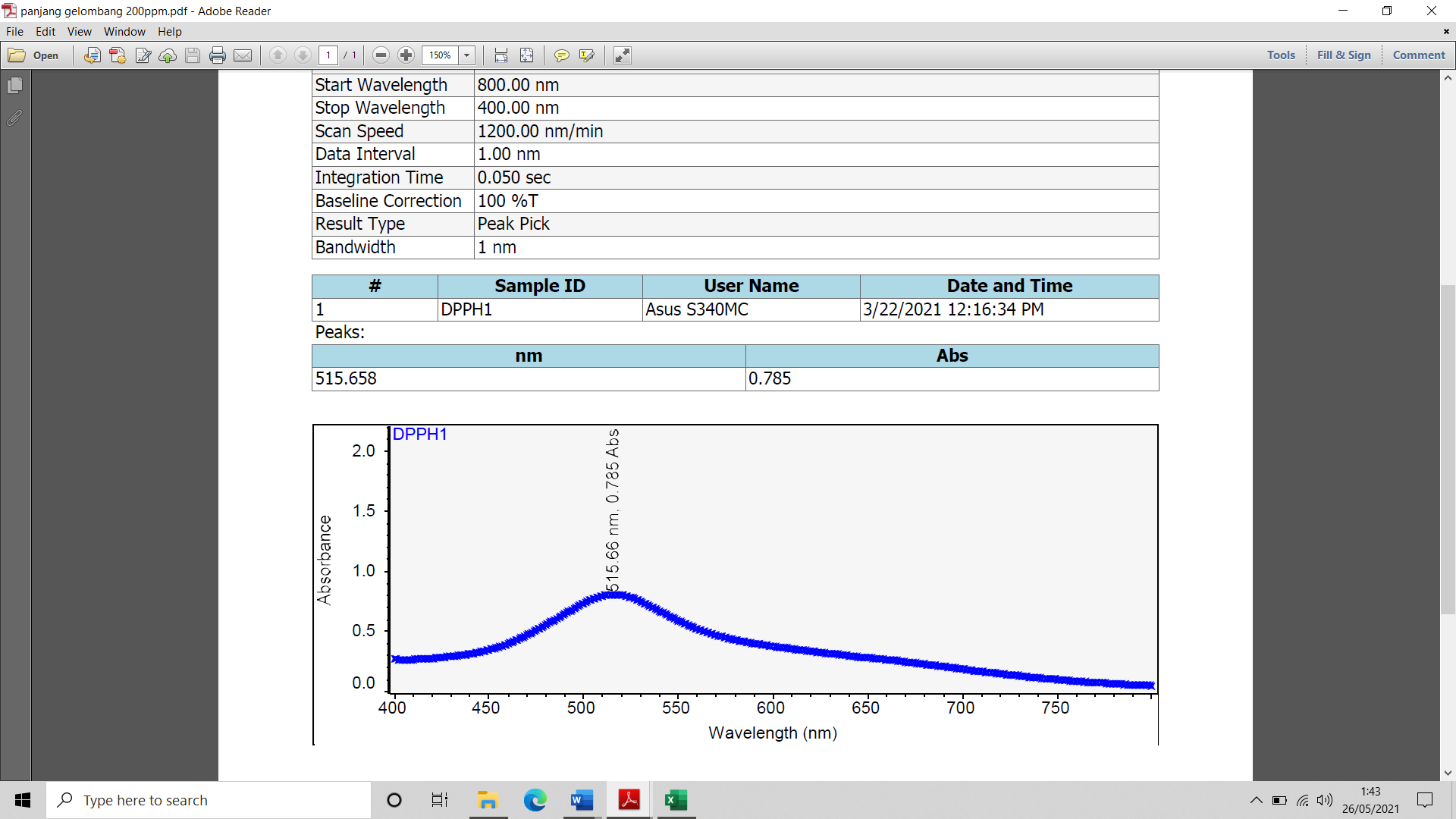
Didiamkan selama 10 menit lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm

Diperoleh Data dan kekuatan sebagai Antioksidan

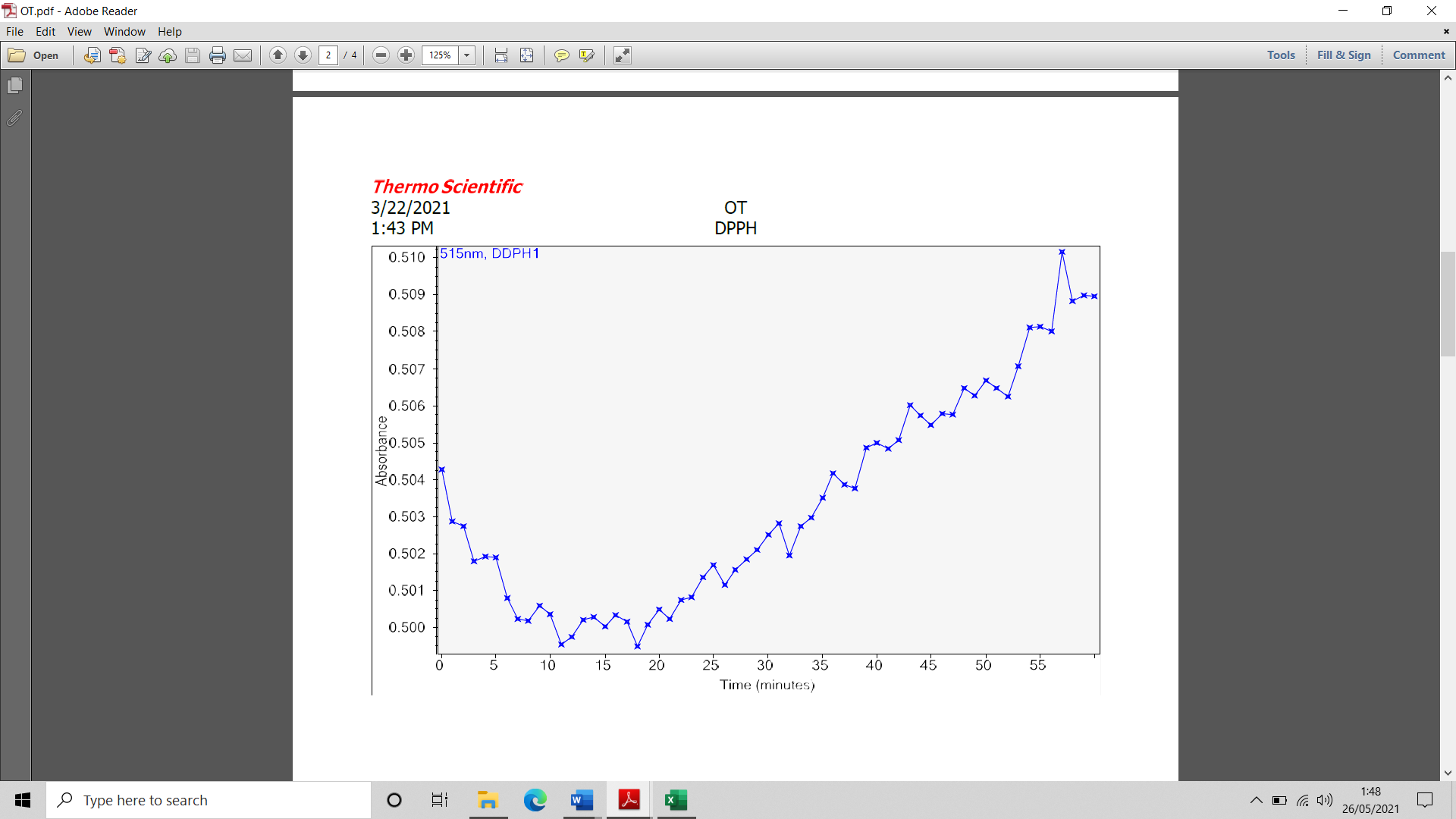
Dihitung persen inhibisi dan IC50

Hasil Pengukuran Absorbansi

**Lampiran 10.** Hasil Penentuan Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH dalam Metanol Secara Spektrofotometri Sinar Tampak

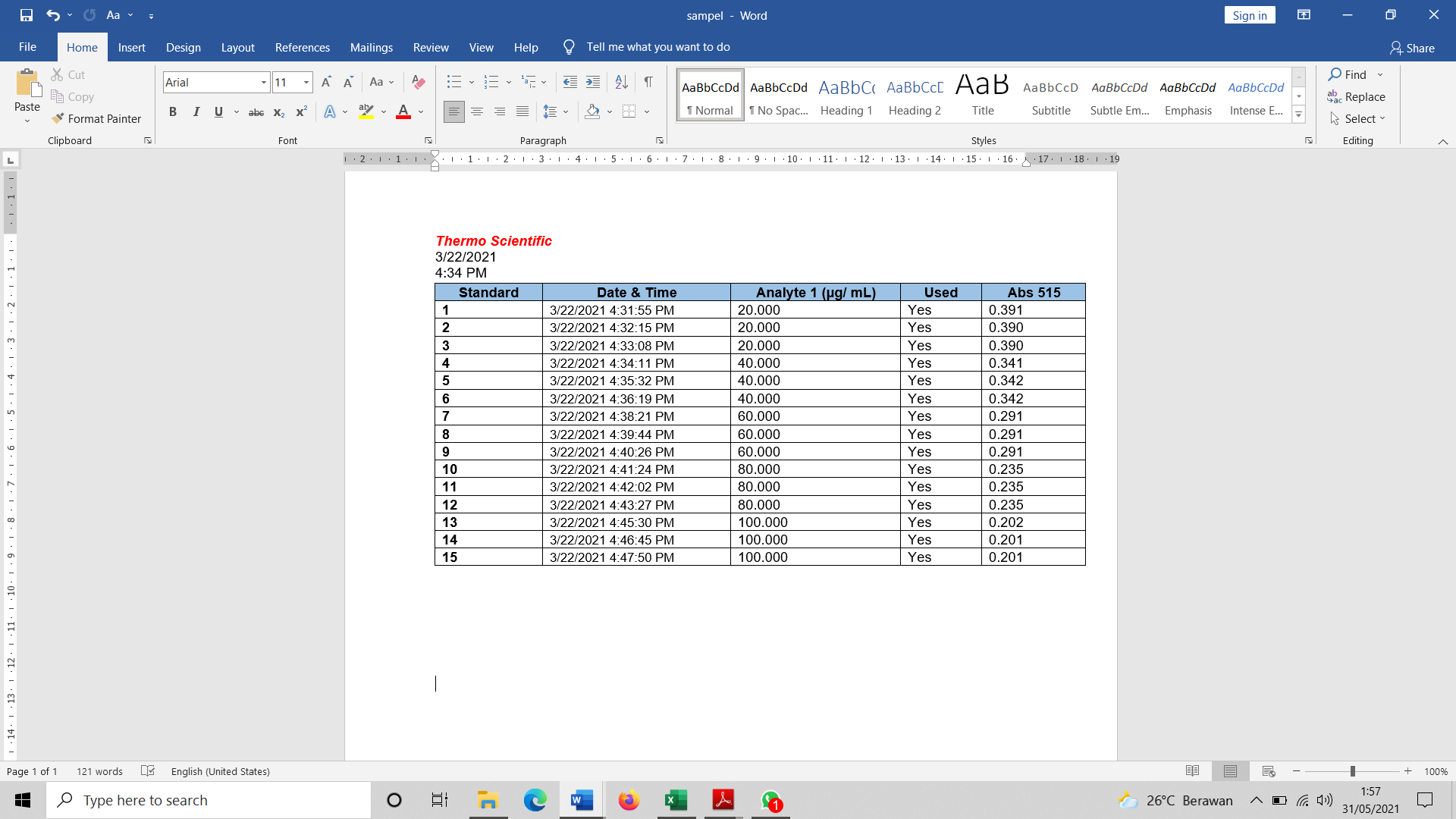


**Lampiran 11.** Hasil Pengukuran *Operating Time* Larutan DPPH

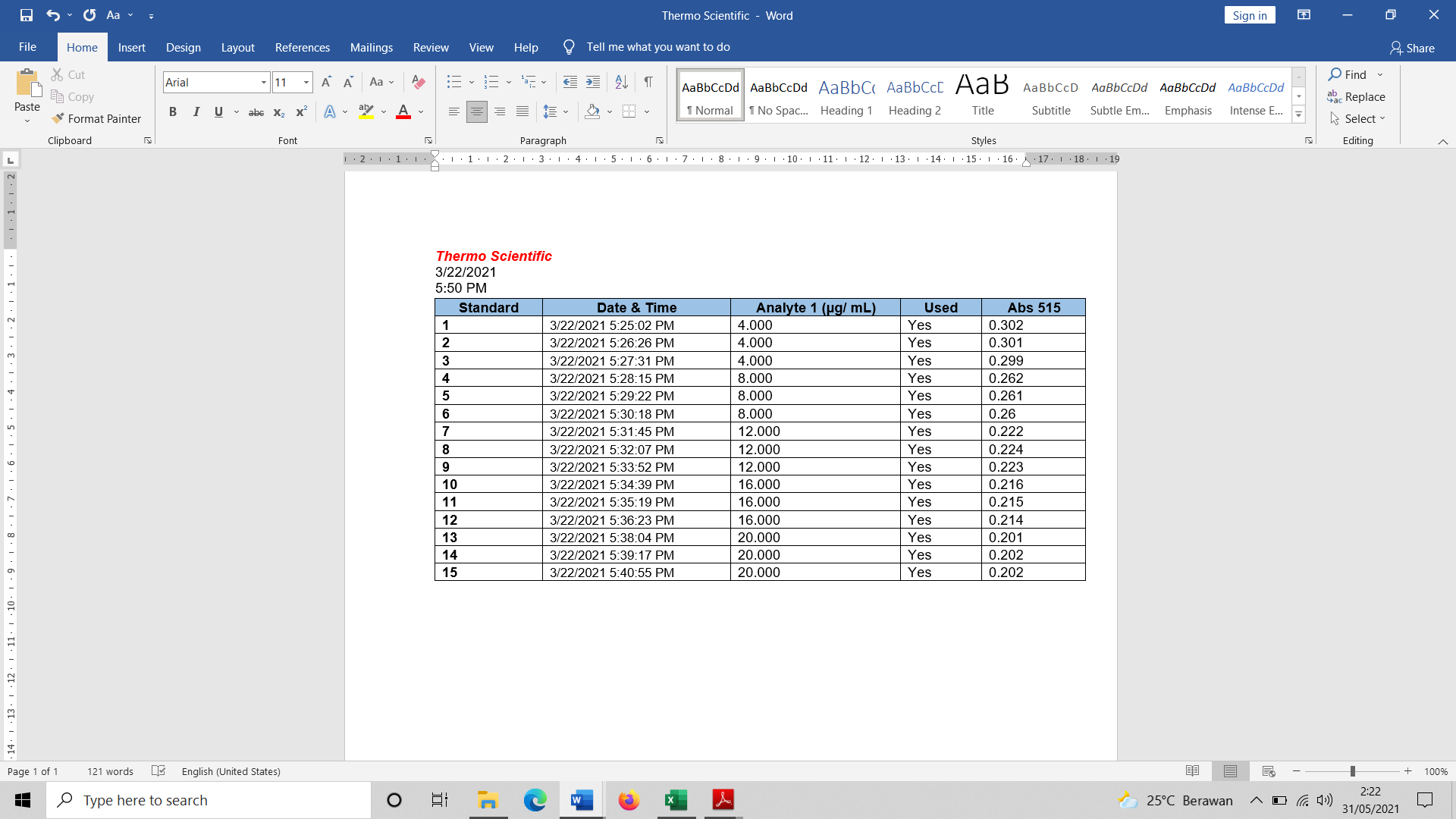


Diperoleh absorbansi stabil pada menit ke 3 sampai 5, berarti waktu kerja (*operating time)* pada menit ke 3 sampai 5

**Lampiran 12.** Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH 50 µg/mL Ditambah Larutan Ekstrak Kulit Batang Gaharu Berbagai Konsentrasi



**Lampiran 13.** Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan DPPH 50µg/mL Ditambah Vitamin C Berbagai Konsentrasi

****

**Lampiran 14.** Perhitugan Pembuatan Larutan DPPH

Rumus bangun DPPH = C18H12N5O6

Berat molekul = 394,32

Dibuat larutan DPPH dengan konsentrasi 50 µg/mL

Ditimbang 50 mg DPPH, dilarutkan dengan metanol di dalam labu tentukur 100 mL, maka diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi

= = 500 µg/mL

Selanjutnya larutan tersebut dipipet sebanyak 2,5 mL, diencerkan dengan metanol di dalam labu tentukur 25 mL, maka diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi

= = 50 µg/mL

**Lampiran 15.** Perhitugan Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Kulit Batang Gaharu

Ditimbang 50 mg ekstrak etanol kulit batang gaharu, dilarutkan dengan metanol di dalam labu tentukur 50 mL, maka diperoleh larutan induk ekstrak metanol kulit batang gaharu dengan konsentrasi = = 1000 µg/mL

Selanjutnya dari larutan ini dibuat larutan ekstrak konsentrasi 20 µg/mL; 40 µg/mL; 60 µg/mL; 80 µg/mL, dan 100 µg/mL masing-masing sebanyak 25 mL

1. Untuk larutan konsentrasi 20 µg/mL, dipipet larutan ekstrak (1000 µg/mL), sebanyak = = 0,50 mL
2. Untuk larutan konsentrasi 50 µg/mL, dipipet larutan ekstrak (1000 µg/mL), sebanyak = = 1,00 mL
3. Untuk larutan konsentrasi 80 µg/mL, dipipet larutan ekstrak (1000 µg/mL), sebanyak = = 1,50 mL
4. Untuk larutan konsentrasi 100 µg/mL, dipipet larutan ekstrak (1000 µg/mL), sebanyak = = 2,0 mL
5. Untuk larutan konsentrasi 130 µg/mL, dipipet larutan ekstrak (1000 µg/mL), sebanyak = = 2,50 mL

Masing-masing dicukupkan sampai 25 mL, dengan cara yang sama untuk variasi kosentrasi yang sama dihitung untuk larutan ekstrak metanol kulit batang gaharu.

**Lampiran 16.** Perhitugan Pembuatan Larutan Vitamin C

Dibuat larutan Vitamin C dengan konsentrasi: 4 µg/mL; 8 µg/mL; 12 µg/mL; 16 µg/mL, dan 20 µg/mL.

Ditimbang 50 mg vitamin C baku, dilarutkan dengan metanol sampai 100 mL, maka diperoleh larutan vitamin C = = 500 µg/mL

Selanjutnya dari larutan ini dipipet sebanyak 5 mL, diencerkan di dalam labu tentukur sampai 50 mL , maka diperoleh larutan vitamin C konsentrasi:

= = 50 µg/mL

Kemudian dari larutan ini dibuat larutan vitamin C konsentrasi 4 µg/mL; 8 µg/mL; 12 µg/mL; 16 µg/mL, dan 20 µg/mL, masing-masing sebanyak 25 mL

1. Untuk larutan konsentrasi 4 µg/mL, dipipet larutan vitamin C (50 µg/mL), sebanyak = = 2,00 mL
2. Untuk larutan konsentrasi 8 µg/mL, dipipet larutan vitamin C (50 µg/mL), sebanyak = = 4,00 mL
3. Untuk larutan konsentrasi 12 µg/mL, dipipet larutan vitamin C (50 µg/mL), sebanyak = = 6,00 mL
4. Untuk larutan konsentrasi 16 µg/mL, dipipet larutan vitamin C (50 µg/mL), sebanyak = = 8,00 mL
5. Untuk larutan konsentrasi 20 µg/mL, dipipet larutan vitamin C (50 µg/mL), sebanyak = = 10,00 mL

Masing-masing dicukupkan sampai 25 mL, dengan cara yang sama untuk variasi kosentrasi yang sama dihitung untuk larutan vitamin C.

**Lampiran 17.** Contoh Perhitungan % Peredaman (Inhibisi) Ekstrak Metanol Kulit Batang Gaharu dan Vitamin C

Sebagai contoh diambil data dari konsentrasi ekstrak = 10 µg/mL

Absorbansi DPPH sebelum ditambah bahan uji = 0,341; 0,342; 0,341; 0,343; 0,342; 0,341

Absorbansi DPPH rata-rata sebelum ditambah bahan uji

= = 0,342

Absorbansi DPPH setelah ditambah ekstrak kulit batang gaharu konsentrasi 10 µg/mLadalah sebagai :0,315; 0,312; 0,315

% peredaman= x 100 %

1. % peredaman= × 100 % = 7,13 %

2. % peredaman= × 100 % = 7,36 %

3. % peredaman= × 100 % = 7,36 %

Persen peredaman (inhibisi) rata-rata = = 7,28 %

Dengan cara yang sama dihitung % peredaman (inhibisi) untuk ekstrak metanol kulit batang gaharu konsentrasi: 20 µg/mL; 40 µg/mL; 60 µg/mL; 80 µg/mL; dan 100 µg/mL, dan terhadap vitamin C konsentrasi 4 µg/mL; 8 µg/mL; 12 µg/mL; 16 µg/mL dan 20 µg/mL. Data dan hasil perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 18.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| NO | Rata-rata Absorbansi DPPH (40 µg/mL) | DPPH (50 µg/mL +Ekstrak Kulit Batang Gaharu 20 µg/mL ) | | DPPH (50 µg/mL +Ekstrak Kulit Batang Gaharu 40 µg/mL ) | | DPPH (50 µg/mL +Ekstrak Kulit Batang Gaharu 60 µg/mL ) | | DPPH (50 µg/mL +Ekstrak Kulit Batang Gaharu 80 µg/mL ) | | DPPH (50 µg/mL +Ekstrak Kulit Batang Gaharu 100 µg/mL ) | |
| Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman |
| 1 | 0.421 | 0.391 | 7.13 | 0.341 | 19.00 | 0.291 | 30.88 | 0.235 | 44.18 | 0.202 | 52.02 |
| 2 | 0.390 | 7.36 | 0.342 | 18.76 | 0.291 | 30.88 | 0.235 | 44.18 | 0.201 | 52.26 |
| 3 | 0.390 | 7.36 | 0.342 | 18.76 | 0.291 | 30.88 | 0.235 | 44.18 | 0.201 | 52.26 |
| % Peredaman rata-rata = | | | 7.28 |  | 18.84 |  | 30.88 |  | 44.18 |  | 52.18 |
| NO | Rata-rata Absorbansi DPPH (10 µg/mL) | DPPH (50 µg/mL +Vitamin C | | DPPH (50 µg/mL +Vitamin C | | DPPH (50 µg/mL +Vitamin C | | DPPH (50 µg/mL +Vitamin C | | DPPH (50 µg/mL +Vitamin C | |
| 4 µg/mL ) | | 8 µg/mL ) | | 12 µg/mL ) | | 16 µg/mL ) | | 20 µg/mL ) | |
| Absorbansi | % | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman | Absorbansi | % Peredaman |
| Peredaman |
| 1 | 0.422 | 0.302 | 11.79 | 0.262 | 23.39 | 0.222 | 35.09 | 0.216 | 36.84 | 0.201 | 41.23 |
| 2 | 0.301 | 11.99 | 0.261 | 23.68 | 0.224 | 34.5 | 0.215 | 37.13 | 0.202 | 40.93 |
| 3 | 0.299 | 12.57 | 0.26 | 23.98 | 0.223 | 34.79 | 0.214 | 37.43 | 0.202 | 40.93 |
| % Peredaman rata-rata = | | | 12.08 |  | 23.68 |  | 34.79 |  | 37.13 |  | 41.03 |

**Lampiran 18.** Data dan Hasil Perhitungan % Peredaman (Inhibisi) Dari Berbagai Bahan Uji

**Lampiran 19.**Perhitungan persamaan garis regresi dan IC50­

* + 1. **Perhitungan IC50­ dari kulit batang gaharu**

Hasil perhitungan persen inhibisi rata-rata dari sari air kulit kulit batang garu berbagai konsentrasi diperoleh sebagai berikut:

|  |  |
| --- | --- |
| Konsentrasi (µg/mL) | Persen inhibisi rata-rata (%) |
| 20 | 7.28 |
| 40 | 18.84 |
| 60 | 30.88 |
| 80 | 44.18 |
| 100 | 52.18 |

1. Perhitungan Persamaan Garis Regresi sebagai berikut:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Konsentrasi (X) | % inhibisi (Y) | X2 | Y2 | XY |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 7.28 | 400 | 52.9984 | 145.6 |
| 40 | 18.84 | 1600 | 354.9456 | 753.6 |
| 60 | 30.88 | 3600 | 953.5744 | 1852.8 |
| 80 | 44.18 | 6400 | 1951.872 | 3534.4 |
| 100 | 52.18 | 10000 | 2722.752 | 5218 |
| Σ X = 300,00 | Σ Y = 153,36 | Σ X2 = 22000 | Σ Y2 = 6036,14 | Σ XY = 11504,4 |
| Rata-rata = 50,00 | Rata-rata = 25,56 |  |  |  |

a = =

= = 0,5480571426 = 0,5481

b = Yrata-rata–aXrata-rata

b = 25,56 – (0,5480571426 x 50) = 1,842857 = 1,8429

Maka diperoleh Persamaan garis regresi: Y = 0,5481 X – 1,8429

1. Perhitungan IC50

Y = 0,5481 X – 1,8429

50 = 0,5481 X – 1,8429

X == 94,59 μg/mL

Maka IC50 untuk sari air kulit batang gaharu = 94,59 μg/mL, kategori kuat, karena berada pada nilai IC50 diperoleh pada ring antara (50 – 100) μg/mL

**Lampiran 19.** ­(Lanjutan)

* + 1. **Perhitungan IC50­ dari vitamin C**

Hasil perhitungan persen inhibisi rata-rata dari vitamin C berbagai konsentrasi diperoleh sebagai berikut:

|  |  |
| --- | --- |
| Konsentrasi (µg/mL) | Persen inhibisi rata-rata (%) |
| 4 | 12.08 |
| 8 | 23.68 |
| 12 | 34.79 |
| 16 | 37.13 |
| 20 | 41.03 |

1. Perhitungan Persamaan Garis Regresi sebagai berikut:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Konsentrasi (X) | % inhibisi (Y) | X2 | Y2 | XY |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 12.08 | 16 | 145.9264 | 48.32 |
| 8 | 23.68 | 64 | 560.7424 | 189.44 |
| 12 | 34.79 | 144 | 1210.344 | 417.48 |
| 16 | 37.13 | 256 | 1378.637 | 594.08 |
| 20 | 41.03 | 400 | 1683.461 | 820.6 |
| Σ X = 60,00 | Σ Y = 148,71 | Σ X2  = 880,00 | Σ Y2 = 4979,1107 | Σ XY = 2069,92 |
| Rata-rata = 10,00 | Rata-rata= 24,785 |  |  |  |

a = =

= = 2,0815

b = Yrata-rata-aXrata-rata

b = 24,785– (2,0815 x 10,00) = 3,97

Maka diperoleh Persamaan garis regresi: Y = 2,0815 X + 3,97

1. Perhitungan IC50

Y = 2,0815 X + 3,97

50 = 2,0815 X + 3,97X = = 22,11 μg/mL

Maka IC50 untuk vitamin C = 22,11μg/mL, kategori sangat kuat karena berada pada nilai IC50 diperoleh lebih kecil dari 50 μg/mL