

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 UJI PEMERANGKAPAN H₂O₂

Lampiran 1.1 Hasil Absorbansi Pemerangkapan Radikal Bebas Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Fraksi Heksan Daun Sirih dan EGCG Sebagai Standar

Agen Antioksidan	Kons	Absorbansi (nm)			Rata-rata
		Ulangan			
		1	2	3	
Fraksi Daun Sirih Heksan 1	312,5 µg/mL	3,920	3,932	3,842	3,898
Fraksi Daun Sirih Heksan 2	156,25 µg/mL	2,631	2,617	2,603	2,617
Fraksi Daun Sirih Heksan 3	78,125 µg/mL	1,325	1,314	1,304	1,314
Fraksi Daun Sirih Heksan 4	39 µg/mL	0,324	0,307	0,309	0,313
Fraksi Daun Sirih Heksan 5	19,53 µg/mL	0,097	0,063	0,073	0,078
Fraksi Daun Sirih Heksan 6	9,77 µg/mL	0,157	0,151	0,145	0,151
Fraksi Daun Sirih Heksan 7	4,88 µg/mL	0,277	0,278	0,298	0,284
Fraksi Daun Sirih Heksan 8	2,44 µg/mL	0,310	0,312	0,323	0,315
Fraksi Daun Sirih Heksan 9	1,22 µg/mL	0,350	0,402	0,417	0,390
Fraksi Daun Sirih Heksan 10	0,61 µg/mL	0,398	0,406	0,411	0,405
EGCG	1,22 µg/mL	0,430	0,461	0,452	0,448

Lampiran 1.2 Hasil Pemerangkap Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Fraksi Heksan Daun Sirih dan EGCG Sebagai Standar

Agen Antioksidan	Kons	CAT%			Rata-rata
		Ulangan			
		1	2	3	
Fraksi Daun Sirih Heksan 1	312,5 µg/mL	-572.38	-574.44	-559.01	-568.61
Fraksi Daun Sirih Heksan 2	156,25 µg/mL	-351.29	-348.89	-346.48	-348.89
Fraksi Daun Sirih Heksan 3	78,125 µg/mL	-127.27	-125.39	-123.67	-125.44
Fraksi Daun Sirih Heksan 4	39 µg/mL	44.43	47.34	47.00	46.26
Fraksi Daun Sirih Heksan 5	19,53 µg/mL	83.36	89.19	87.48	86.68
Fraksi Daun Sirih Heksan 6	9,77 µg/mL	73.07	74.10	75.13	74.10
Fraksi Daun Sirih Heksan 7	4,88 µg/mL	52.49	52.32	48.89	51.23
Fraksi Daun Sirih Heksan 8	2,44 µg/mL	46.83	46.48	44.60	45.97
Fraksi Daun Sirih Heksan 9	1,22 µg/mL	39.97	31.05	28.47	33.16
Fraksi Daun Sirih Heksan 10	0,61 µg/mL	31.73	30.36	29.50	30.53
EGCG	1,22 µg/mL	56.26	53.10	54.02	54.46

Lampiran 1.3 Statistik Uji Pemerangkapan H₂O₂ Fraksi Heksan Daun Sirih dengan EGCG Sebagai Standar

Oneway

Descriptives

Persentase Pemerangkapan H₂O₂

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Heksan 312.50	3	-568.61	8.38	4.84	-589.42	-547.80	-574.44	-559.01
Heksan 156.25	3	-348.89	2.41	1.39	-354.86	-342.91	-351.29	-346.48
Heksan 78.13	3	-125.44	1.80	1.04	-129.92	-120.97	-127.27	-123.67
Heksan 39.06	3	46.26	1.59	.92	42.30	50.21	44.43	47.34
Heksan 19.53	3	86.68	3.00	1.73	79.23	94.12	83.36	89.19
Heksan 9.77	3	74.10	1.03	.59	71.54	76.66	73.07	75.13
Heksan 4.88	3	51.23	2.03	1.17	46.19	56.28	48.89	52.49
Heksan 2.44	3	45.97	1.20	.69	42.99	48.95	44.60	46.83
Heksan 1.22	3	33.16	6.03	3.48	18.17	48.15	28.47	39.97
Heksan 0.61	3	30.53	1.12	.65	27.74	33.32	29.50	31.73
EGCG 1,22	3	54.46	1.63	.94	50.42	58.50	53.10	56.26
Total	33	-56.41	205.56	35.78	-129.30	16.48	-574.44	89.19

Test of Homogeneity of Variances

Persentase Pemerangkapan H₂O₂

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.101	10	22	.001

ANOVA

Persentase Pemerangkapan H₂O₂

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1351940.983	10	135194.098	10802.706	.000
Within Groups	275.326	22	12.515		
Total	1352216.310	32			

*Post Hoc Tests**Multiple Comparisons*

(I) Kelompok Konsentrasi	(J) Kelompok Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Heksan 312.50	Heksan 156.25	-219.72333*	2.88846	.000	-230.0491	-209.3976
	Heksan 78.13	-443.16667*	2.88846	.000	-453.4924	-432.8409
	Heksan 39.06	-614.86667*	2.88846	.000	-625.1924	-604.5409
	Heksan 19.53	-655.28667*	2.88846	.000	-665.6124	-644.9609
	Heksan 9.77	-642.71000*	2.88846	.000	-653.0357	-632.3843
	Heksan 4.88	-619.84333*	2.88846	.000	-630.1691	-609.5176
	Heksan 2.44	-614.58000*	2.88846	.000	-624.9057	-604.2543
	Heksan 1.22	-601.77333*	2.88846	.000	-612.0991	-591.4476
	Heksan 0.61	-599.14000*	2.88846	.000	-609.4657	-588.8143
EGCG 1,22	-623.07000*	2.88846	.000	-633.3957	-612.7443	
Heksan 156.25	Heksan 312.50	219.72333*	2.88846	.000	209.3976	230.0491
	Heksan 78.13	-223.44333*	2.88846	.000	-233.7691	-213.1176
	Heksan 39.06	-395.14333*	2.88846	.000	-405.4691	-384.8176
	Heksan 19.53	-435.56333*	2.88846	.000	-445.8891	-425.2376
	Heksan 9.77	-422.98667*	2.88846	.000	-433.3124	-412.6609
	Heksan 4.88	-400.12000*	2.88846	.000	-410.4457	-389.7943
	Heksan 2.44	-394.85667*	2.88846	.000	-405.1824	-384.5309
	Heksan 1.22	-382.05000*	2.88846	.000	-392.3757	-371.7243
Heksan 0.61	-379.41667*	2.88846	.000	-389.7424	-369.0909	

	EGCG 1,22	-403.34667*	2.88846	.000	-413.6724	-393.0209
Heksan 78.13	Heksan 312.50	443.16667*	2.88846	.000	432.8409	453.4924
	Heksan 156.25	223.44333*	2.88846	.000	213.1176	233.7691
	Heksan 39.06	-171.70000*	2.88846	.000	-182.0257	-161.3743
	Heksan 19.53	-212.12000*	2.88846	.000	-222.4457	-201.7943
	Heksan 9.77	-199.54333*	2.88846	.000	-209.8691	-189.2176
	Heksan 4.88	-176.67667*	2.88846	.000	-187.0024	-166.3509
	Heksan 2.44	-171.41333*	2.88846	.000	-181.7391	-161.0876
	Heksan 1.22	-158.60667*	2.88846	.000	-168.9324	-148.2809
	Heksan 0.61	-155.97333*	2.88846	.000	-166.2991	-145.6476
	EGCG 1,22	-179.90333*	2.88846	.000	-190.2291	-169.5776
Heksan 39.06	Heksan 312.50	614.86667*	2.88846	.000	604.5409	625.1924
	Heksan 156.25	395.14333*	2.88846	.000	384.8176	405.4691
	Heksan 78.13	171.70000*	2.88846	.000	161.3743	182.0257
	Heksan 19.53	-40.42000*	2.88846	.000	-50.7457	-30.0943
	Heksan 9.77	-27.84333*	2.88846	.000	-38.1691	-17.5176
	Heksan 4.88	-4.97667	2.88846	.809	-15.3024	5.3491
	Heksan 2.44	.28667	2.88846	1.000	-10.0391	10.6124
	Heksan 1.22	13.09333*	2.88846	.006	2.7676	23.4191
	Heksan 0.61	15.72667*	2.88846	.001	5.4009	26.0524
	EGCG 1,22	-8.20333	2.88846	.206	-18.5291	2.1224
Heksan 19.53	Heksan 312.50	655.28667*	2.88846	.000	644.9609	665.6124
	Heksan 156.25	435.56333*	2.88846	.000	425.2376	445.8891
	Heksan 78.13	212.12000*	2.88846	.000	201.7943	222.4457
	Heksan 39.06	40.42000*	2.88846	.000	30.0943	50.7457
	Heksan 9.77	12.57667*	2.88846	.009	2.2509	22.9024
	Heksan 4.88	35.44333*	2.88846	.000	25.1176	45.7691
	Heksan 2.44	40.70667*	2.88846	.000	30.3809	51.0324
	Heksan 1.22	53.51333*	2.88846	.000	43.1876	63.8391
	Heksan 0.61	56.14667*	2.88846	.000	45.8209	66.4724
	EGCG 1,22	32.21667*	2.88846	.000	21.8909	42.5424
Heksan 9.77	Heksan 312.50	642.71000*	2.88846	.000	632.3843	653.0357

	Heksan 156.25	422.98667*	2.88846	.000	412.6609	433.3124
	Heksan 78.13	199.54333*	2.88846	.000	189.2176	209.8691
	Heksan 39.06	27.84333*	2.88846	.000	17.5176	38.1691
	Heksan 19.53	-12.57667*	2.88846	.009	-22.9024	-2.2509
	Heksan 4.88	22.86667*	2.88846	.000	12.5409	33.1924
	Heksan 2.44	28.13000*	2.88846	.000	17.8043	38.4557
	Heksan 1.22	40.93667*	2.88846	.000	30.6109	51.2624
	Heksan 0.61	43.57000*	2.88846	.000	33.2443	53.8957
	EGCG 1,22	19.64000*	2.88846	.000	9.3143	29.9657
Heksan 4.88	Heksan 312.50	619.84333*	2.88846	.000	609.5176	630.1691
	Heksan 156.25	400.12000*	2.88846	.000	389.7943	410.4457
	Heksan 78.13	176.67667*	2.88846	.000	166.3509	187.0024
	Heksan 39.06	4.97667	2.88846	.809	-5.3491	15.3024
	Heksan 19.53	-35.44333*	2.88846	.000	-45.7691	-25.1176
	Heksan 9.77	-22.86667*	2.88846	.000	-33.1924	-12.5409
	Heksan 2.44	5.26333	2.88846	.756	-5.0624	15.5891
	Heksan 1.22	18.07000*	2.88846	.000	7.7443	28.3957
	Heksan 0.61	20.70333*	2.88846	.000	10.3776	31.0291
	EGCG 1,22	-3.22667	2.88846	.985	-13.5524	7.0991
Heksan 2.44	Heksan 312.50	614.58000*	2.88846	.000	604.2543	624.9057
	Heksan 156.25	394.85667*	2.88846	.000	384.5309	405.1824
	Heksan 78.13	171.41333*	2.88846	.000	161.0876	181.7391
	Heksan 39.06	-.28667	2.88846	1.000	-10.6124	10.0391
	Heksan 19.53	-40.70667*	2.88846	.000	-51.0324	-30.3809
	Heksan 9.77	-28.13000*	2.88846	.000	-38.4557	-17.8043
	Heksan 4.88	-5.26333	2.88846	.756	-15.5891	5.0624
	Heksan 1.22	12.80667*	2.88846	.008	2.4809	23.1324
	Heksan 0.61	15.44000*	2.88846	.001	5.1143	25.7657
	EGCG 1,22	-8.49000	2.88846	.173	-18.8157	1.8357
Heksan 1.22	Heksan 312.50	601.77333*	2.88846	.000	591.4476	612.0991
	Heksan 156.25	382.05000*	2.88846	.000	371.7243	392.3757
	Heksan 78.13	158.60667*	2.88846	.000	148.2809	168.9324

	Heksan 39.06	-13.09333*	2.88846	.006	-23.4191	-2.7676
	Heksan 19.53	-53.51333*	2.88846	.000	-63.8391	-43.1876
	Heksan 9.77	-40.93667*	2.88846	.000	-51.2624	-30.6109
	Heksan 4.88	-18.07000*	2.88846	.000	-28.3957	-7.7443
	Heksan 2.44	-12.80667*	2.88846	.008	-23.1324	-2.4809
	Heksan 0.61	2.63333	2.88846	.997	-7.6924	12.9591
	EGCG 1,22	-21.29667*	2.88846	.000	-31.6224	-10.9709
Heksan 0.61	Heksan 312.50	599.14000*	2.88846	.000	588.8143	609.4657
	Heksan 156.25	379.41667*	2.88846	.000	369.0909	389.7424
	Heksan 78.13	155.97333*	2.88846	.000	145.6476	166.2991
	Heksan 39.06	-15.72667*	2.88846	.001	-26.0524	-5.4009
	Heksan 19.53	-56.14667*	2.88846	.000	-66.4724	-45.8209
	Heksan 9.77	-43.57000*	2.88846	.000	-53.8957	-33.2443
	Heksan 4.88	-20.70333*	2.88846	.000	-31.0291	-10.3776
	Heksan 2.44	-15.44000*	2.88846	.001	-25.7657	-5.1143
	Heksan 1.22	-2.63333	2.88846	.997	-12.9591	7.6924
	EGCG 1,22	-23.93000*	2.88846	.000	-34.2557	-13.6043
EGCG 1,22	Heksan 312.50	623.07000*	2.88846	.000	612.7443	633.3957
	Heksan 156.25	403.34667*	2.88846	.000	393.0209	413.6724
	Heksan 78.13	179.90333*	2.88846	.000	169.5776	190.2291
	Heksan 39.06	8.20333	2.88846	.206	-2.1224	18.5291
	Heksan 19.53	-32.21667*	2.88846	.000	-42.5424	-21.8909
	Heksan 9.77	-19.64000*	2.88846	.000	-29.9657	-9.3143
	Heksan 4.88	3.22667	2.88846	.985	-7.0991	13.5524
	Heksan 2.44	8.49000	2.88846	.173	-1.8357	18.8157
	Heksan 1.22	21.29667*	2.88846	.000	10.9709	31.6224
	Heksan 0.61	23.93000*	2.88846	.000	13.6043	34.2557

*. *The mean difference is significant at the 0.05 level.*

*Homogeneous Subsets*Persentase Pemerangkapan H₂O₂*Tukey HSD^a*

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Heksan 312.50	3	-568.61						
Heksan 156.25	3		-348.89					
Heksan 78.13	3			-125.44				
Heksan 0.61	3				30.53			
Heksan 1.22	3				33.16			
Heksan 2.44	3					45.97		
Heksan 39.06	3					46.26		
Heksan 4.88	3					51.23		
EGCG 1,22	3					54.46		
Heksan 9.77	3						74.10	
Heksan 19.53	3							86.68
Sig.		1.000	1.000	1.000	.997	.173	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LAMPIRAN 2. UJI TOTAL FENOL

Lampiran 2.1 Konsentrasi dan Absorbansi Standar EGCG pada Panjang Gelombang 760 nm pada Uji Total Fenol

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	0,466	0,532	0,442	0,473
75	0,515	0,482	0,405	0,468
50	0,245	0,295	0,278	0,273
25	0,134	0,172	0,157	0,154
12,5	0,079	0,085	0,092	0,085
6,25	0,073	0,057	0,058	0,063

Konsentrasi (x)	Rata-rata Absorbansi (y)
100	0,473
75	0,468
50	0,273
25	0,154
12,5	0,085
6,25	0,063

Dari data di atas diperoleh persamaan :
 $y = 0,0048 x + 0,0357$

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.965928
R Square	0.933018
Adjusted R Square	0.928831
Standard Error	0.046687
Observations	18

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	0.485776	0.485776	222.8695	8.21E-11
Residual	16	0.034874	0.00218		
Total	17	0.52065			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>
Intercept	0.035745	0.018224	1.961394	0.067475	-0.00289	0.074378	-0.00289
X	0.004842	0.000324	14.92881	8.21E-11	0.004154	0.005529	0.004154

$$Y \text{ EGCG} = 0.035745 + 0.004842 X (\mu\text{g})$$

R multiple 0.965

R square 0.933

$$Y = 0.004X + 0.035$$

R square 0.958

Lampiran 2.2 Absorbansi Fraksi Heksan Daun Sirih pada Uji Total Fenol

Sampel	Absorbansi (nm)			Rata-rata
	1	2	3	
Fraksi heksan	0,506	0,605	0.562	0.558

Lampiran 2.3 Hasil Uji Total Fenol pada Fraksi Heksan Daun Sirih

Absorbansi Fraksi Heksan Daun Sirih pada Uji Total Fenol

Sampel	Absorbansi (nm)			Rata-rata
	1	2	3	
Fraksi heksan	0,506	0,605	0.562	0.558

Total fenol fraksi heksan daun sirih diperoleh berdasarkan nilai absorbansi standar EGCG dicari persamaan regresi $y = a+bx$, dari nilai absorbansi dan konsentrasi (lampiran 2.1). y adalah absorbansi sedangkan x adalah konsentrasi total fenol. Dari standar EGCG diperoleh persamaan :

$$y = 0,004842 x + 0,035745$$

$$x_1 = \frac{0,506 - 0,035745}{0,004842}$$

$$x_1 = 97,120$$

$$x_2 = \frac{0,605 - 0,035745}{0,004842}$$

$$x_2 = 117,566$$

$$x_3 = \frac{0,562 - 0,035745}{0,004842}$$

$$x_3 = 108,685$$

$$x_{\text{rata-rata}} = \frac{x_1 + x_2 + x_3}{3}$$

$$x_{\text{rata-rata}} = 107,791 \text{ dalam } 500 \mu\text{g/mL sampel}$$

$$x_{\text{rata-rata}} = 107,791 \times 2$$

$$= 215,58 \text{ dalam } 1000 \mu\text{g/mL sampel}$$

Hasil Uji Total Fenol pada Fraksi Heksan Daun Sirih dalam 500 $\mu\text{g/mL}$ sampel

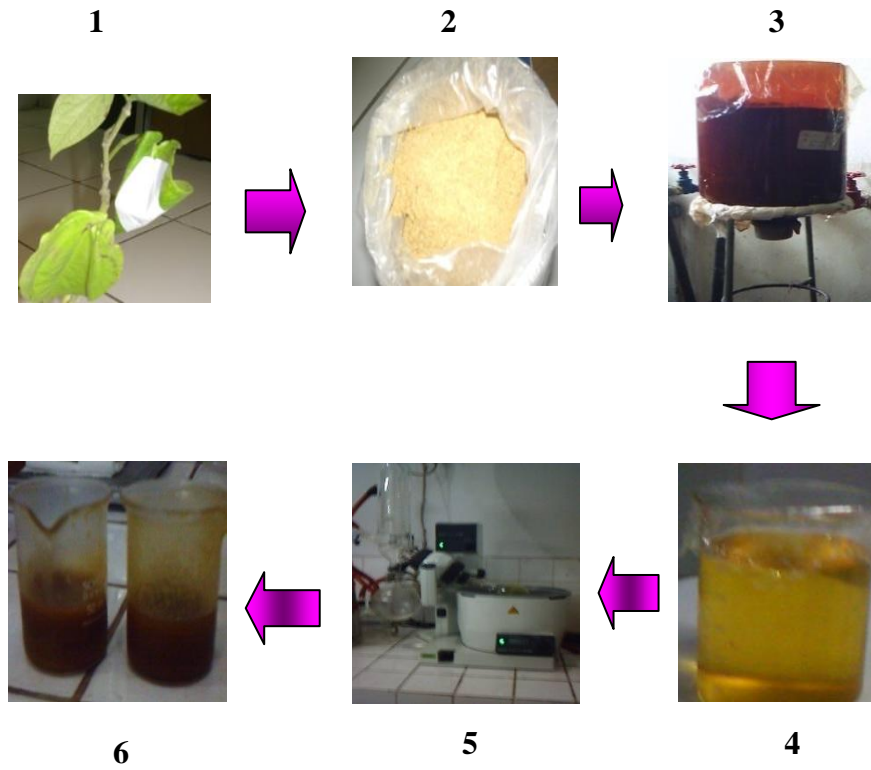
Sampel	Konsentrasi Total Fenol ($\mu\text{g/mg}$)			Rata-rata
	1	2	3	
Fraksi heksan	97.120	117.566	108.685	107.791

Hasil Uji Total Fenol pada Fraksi Heksan Daun Sirih dalam 1000 $\mu\text{g/mL}$ sampel

Sampel	Konsentrasi Total Fenol ($\mu\text{g/mg}$)			Rata-rata
	1	2	3	
Fraksi heksan	194,24	235,13	217,37	215,58

LAMPIRAN 3. DOKUMENTASI KEGIATAN

Lampiran 3.1 Diagram Alir Ekstraksi Dengan Metode Maserasi



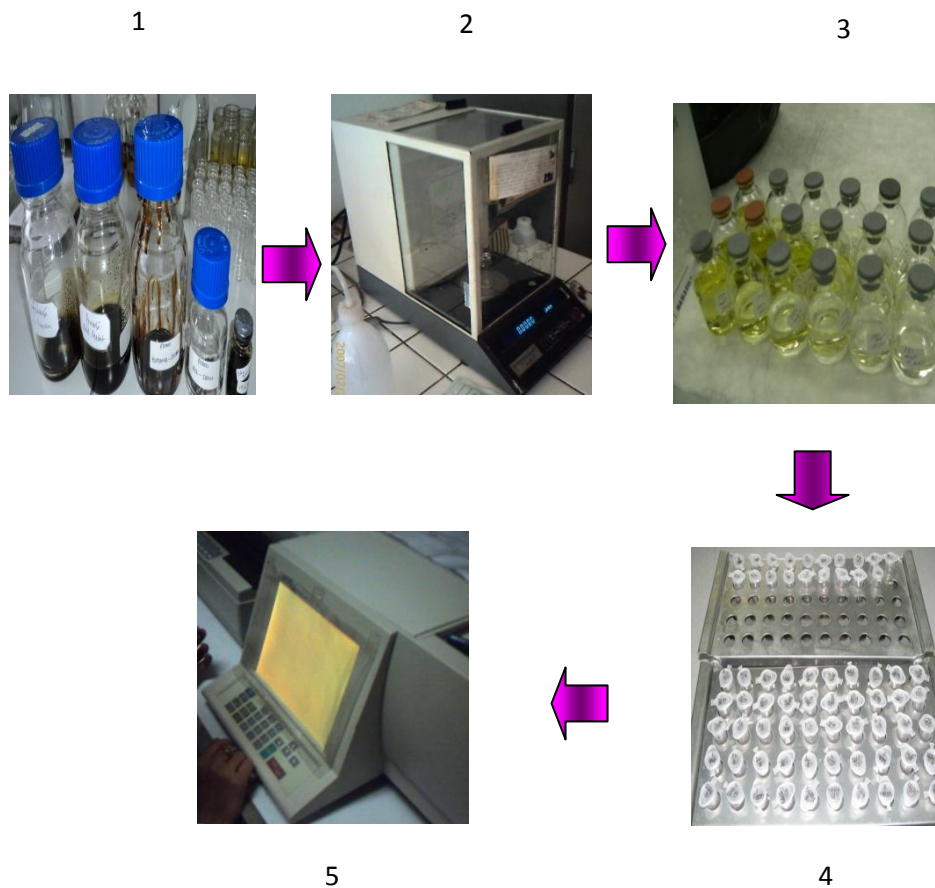
1. Daun sirih
2. Serbuk daun sirih
3. Serbuk direndam etanol dalam maserator
4. Etanol ditampung
5. Filtrat etanol dievaporasi
6. Ekstrak daun sirih

Lampiran 3.2 Diagram Alir Fraksionasi



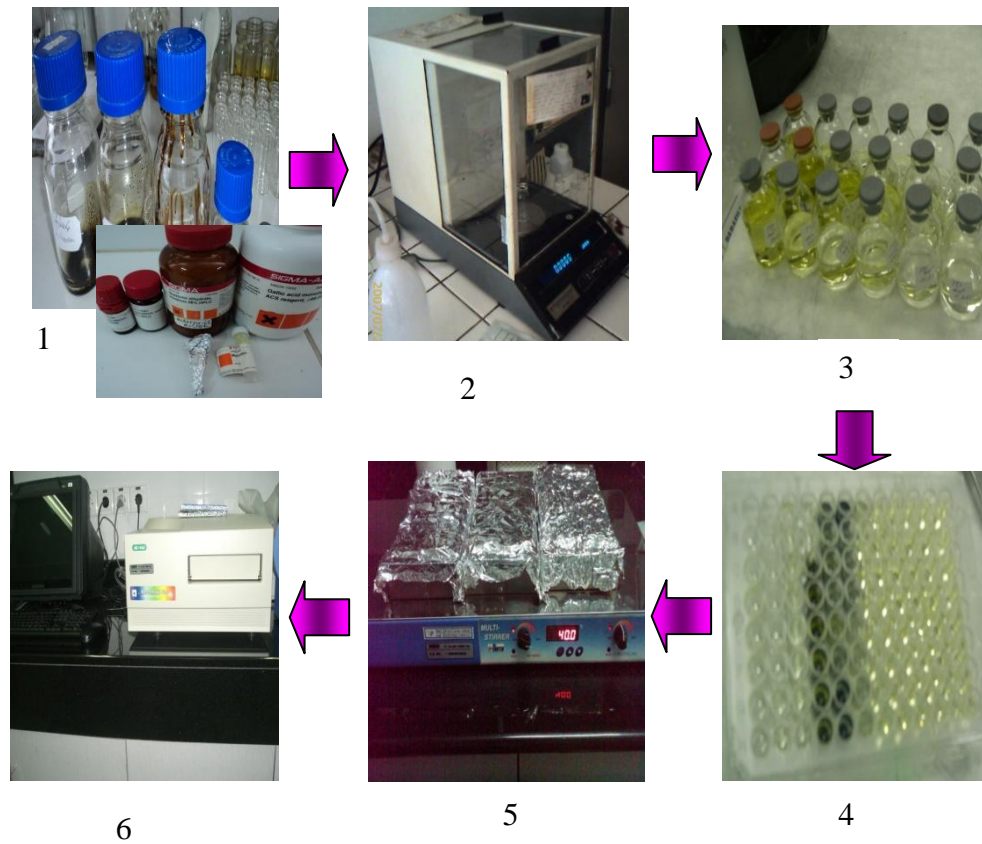
1. Ekstrak daun sirih
2. Fraksionasi menggunakan pelarut heksana
3. Filtrat masing-masing fraksi ditampung
4. Filtrat masing-masing fraksi dievaporasi
5. Fraksi heksana

Lampiran 3.3 Diagram Alir Uji Aktivitas Antoksidan Pemerangkap H₂O₂



1. Fraksi heksan daun sirih
2. Fraksi heksan daun sirih dan ditimbang untuk membuat berbagai level konsentrasi
3. Ekstrak etanol dan berbagai fraksi daun sirih dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 312,5, 156,25, 78,125, 39, 19,53, 9,77, 4,88, 2,44, 1,22, 0,61 µg/mL
4. Ke dalam eppendorf dimasukkan 0,6 µL H₂O₂ (2 mM dalam PBS pH 7,4) dan 1 µL sampel. Blanko PBS tanpa H₂O₂, kontrol negatif H₂O₂ tanpa PBS
5. Absorbansi sampel dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 230 nm

Lampiran 3.4 diagram alir uji total fenol



1. Fraksi heksan daun sirih
2. Fraksi heksan ditimbang untuk membuat level konsentrasi
3. EGCG dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 100, 75, 50, 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,781; 0,391 $\mu\text{g/mL}$ sebagai standar. Sampel ekstrak, fraksi-fraksi ditimbang 500 dan 250 $\mu\text{g/mL}$
4. Dalam microplate isi 25 μL sampel (ekstrak, fraksi, standar), 125 μL folin, 100 μL Na_2CO_3
5. Inkubasi pada suhu 45– 50⁰ C selama 10 menit
6. Baca absorbansi pada 760 nm
7. Buat kurva persamaan standar EGCG
8. Hitung kadar fenol sampel fraksi heksan daun sirih berdasarkan standard

RIWAYAT HIDUP

Nama : I Kadek Ariarta Mahartama

Nomor Pokok Mahasiswa : 080140

Tempat dan Tanggal Lahir : Pidpid 5 September 1989

Alamat : BTN Sueta Gang Mawar 3 no.105-106 Jl.
Sandubaya, Mataram

Riwayat Pendidikan :SDN 1 PIDPID

SLTPN 1 ABANG

SMAK SANTO YOSEPH DENPASAR

2008 – sekarang mahasiswa Fakultas
Kedokteran Universitas Kristen Maranatha
Bandung