

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Harendong Bulu (*Miconia crenata*)

Harendong bulu (*Miconia crenata*) merupakan tumbuhan liar yang dapat dijumpai disekitar semak samun dan belukar. Harendong bulu tumbuh di tempat lembab dengan tanah yang memiliki unsur humus tinggi. Morfologi tumbuhan harendong bulu memiliki tinggi sekitar 55 cm dengan ujung pangkal daun runcing, permukaan daun berbulu, panjang daun sekitar 8 cm, lebar daun sekitar 5 cm, dan daun berwarna hijau. Harendong bulu termasuk tanaman berbatang kayu dengan bentuk batang bulat, pada permukaan batang terdapat bulu yang rapat, bersisik, dan memiliki akar tunggang (Pelu dan Djarami, 2021). Klasifikasi tanaman harendong bulu menurut Pratami dkk. (2021), sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Suku : Melastomaceae
Marga : *Miconia*
Jenis : *Miconia crenata* L.

Harendong bulu memiliki senyawa metabolit sekunder yang tinggi seperti tanin dan flavonoid. Senyawa flavonoid dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan. Senyawa tanin berperan untuk menangkal radikal bebas dan enzim antioksidan dapat diaktifkan (Malia dkk., 2020). Kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam jumlah banyak pada tanaman harendong bulu akan menghasilkan nilai IC_{50} yang sangat kuat dibandingkan asam askorbat. Ekstrak etanol daun harendong bulu memiliki nilai IC_{50} yang lebih

tinggi dibandingkan asam askorbat yaitu secara berturut-turut sebesar 2,55 mg/L dan 3,88 mg/L (Junedi dkk., 2023).

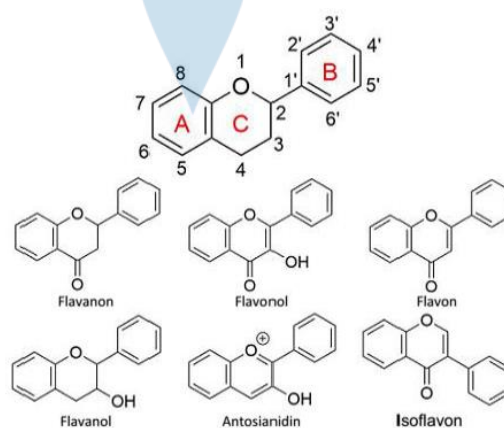
B. Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup seperti tumbuhan, mikroba, dan hewan melalui jalur biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan dan ketika tidak digunakan akan disimpan dalam bentuk gula, asam amino, dan asam lemak (Tari dkk., 2022). Fungsi metabolit sekunder untuk tumbuhan yaitu mempertahankan diri dari kondisi cekaman dan membantu saat penyerbukan bunga dengan cara menarik pollinator. Fungsi metabolit sekunder untuk manusia yaitu sebagai bahan baku kimia campuran dalam pembuatan obat (Botahala dkk., 2020).

Faktor yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada tanaman terdiri atas faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal, yaitu gen, sedangkan faktor eksternal meliputi cahaya, suhu, kelembaban, pH, unsur hara di dalam tanah dan ketinggian tempat. Ketinggian tempat dapat mempengaruhi metabolit sekunder dimana perbedaan ketinggian tempat dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman, sehingga senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman akan berbeda-beda pada setiap ketinggian tempat (Katuuk dkk., 2019). Faktor lain yang mempengaruhi metabolit sekunder yaitu metode ekstraksi dimana perbedaan metode ekstraksi yang digunakan akan mengakibatkan adanya perbedaan kandungan metabolit sekunder yang dimiliki suatu ekstrak karena sifat fisika-

kimia golongan senyawa fitokimia (Putri dkk., 2022). Cekaman dapat menjadi faktor yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dimana ketika adanya cekaman biotik maupun abiotik maka tanaman dapat memproduksi berbagai mekanisme pertahanan, salah satunya yaitu melakukan biosintesis metabolit sekunder, semakin tinggi cekaman pada tanaman maka produksi metabolit sekunder juga semakin tinggi, sebaliknya jika tidak ada cekaman maka tanaman tidak memproduksi metabolit sekunder (Perangin-angin dkk., 2019).

Senyawa metabolit sekunder terdiri atas beberapa jenis seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, steroid, dan saponin (Makin dkk., 2025). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki potensi aktivitas antioksidan dengan struktur dasar C₆-C₃-C₆ yang terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh rantai karbon. Senyawa flavonoid berdasarkan struktur kimia terdiri atas beberapa jenis, yaitu flavonol, flavanol, antosianin, isoflavonoid, flavanon, dan flavon. Struktur dasar senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 1 (Ayunda dan Malita, 2024).



Gambar 1. Struktur Senyawa Flavonoid (Ayunda dan Malita, 2024).

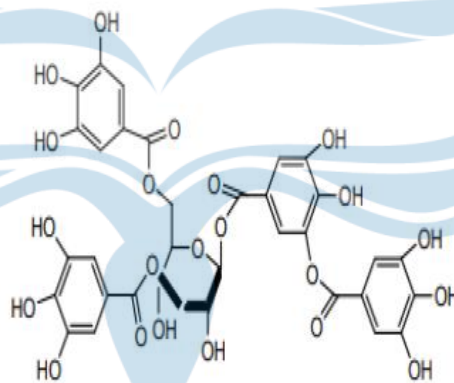
Flavanon merupakan kelompok pertama senyawa flavonoid yang pada cincin karbon kerangka flavonoid tidak mempunyai ikatan rangkap pada atom karbon 2 dan 3. Senyawa golongan flavanon, yaitu aglikon dan glikosida. Flavonol merupakan kelompok kedua senyawa flavonoid yang memiliki gugus keton, seperti senyawa *quercetin*, *myricetin*, fisetin, dan kaempferol. Flavon merupakan kelompok ketiga senyawa flavonoid yang memiliki ikatan rangkap pada atom karbon 2 dan 3, serta struktur inti flavonoid dengan gugus = O berada pada posisi 4. Senyawa golongan flavon, yaitu apigenin, baicalein, krisin, luteolin, sinaroside, viteksin, dan nobiletin (Ayunda dan Malita, 2024).

Flavanol merupakan kelompok keempat senyawa flavonoid yang memiliki gugus hidroksil pada posisi 3, namun tidak memiliki gugus keton dan ikatan jenuh pada posisi 2 dan 3. Senyawa golongan flavanol, yaitu catechin dan *epigallocatechin gallate*. Antosianidin merupakan kelompok kelima senyawa flavonoid yang memiliki dua ikatan rangkap pada posisi atom karbon 1 dan 2, namun tidak memiliki gugus keton. Senyawa golongan antosianidin, yaitu malvidin, sianidin, dan delphinidin (Ayunda dan Malita, 2024).

Isoflavon merupakan kelompok keenam senyawa flavonoid yang memiliki struktur yang sama dengan hormon esterogen. Senyawa golongan isoflavon yaitu aglikon daidzein, dan genistein (Ayunda dan Malita, 2024). Senyawa flavonoid memiliki sifat kepolaran yang bergantung pada kepolaran pelarut yang digunakan, sehingga flavonoid dapat ditarik ke dalam pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda. Senyawa flavonoid dapat ditarik ke dalam pelarut etil asetat, n-heksan, dan akuades. Kadar flavonoid pada fraksi

daun tunjuk langit dengan pelarut etil asetat, n-heksan, dan akuades secara berturut-turut sebesar 174,286; 102,286; dan 69,4 mg QE/g (Kalsum dkk., 2023).

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki gugus hidroksil kompleks dengan bentuk beragam berat molekul tinggi sebesar 500 hingga 20.000 Da. Tanin memiliki sifat fisika, yaitu jika dilarutkan ke dalam air akan membentuk koloid, memiliki aroma yang khas, dengan rasa asam dan sepat, berbentuk serbuk amorf, serta tidak memiliki titik leleh. Sifat kimia senyawa tanin, yaitu sulit dipisahkan dan dikristalisasi, dapat larut dalam pelarut organik, dapat dihidrolisis oleh asam, basa, dan enzim. Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2 (Hersila dkk., 2023).



Gambar 2. Struktur Senyawa Tanin (Hersila dkk., 2023).

Struktur tanin terdiri atas cincin benzena (C₆) yang terikat pada gugus hidroksil (-OH). Tanin digolongkan menjadi 2 jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi merupakan golongan tanin yang terdiri atas polimer flavonoid yang termasuk senyawa fenolik yang memiliki ikatan pada atom karbon 8 dan 4, serta tahan terhadap reaksi hidrolisis. Tanin

terhidrolisis merupakan golongan tanin yang dapat menghasilkan asam galat dan asam elagit melalui hidrolisis oleh asam atau enzim (Hersila dkk., 2023).

Tanin terhidrolisis memiliki karakteristik antara lain termasuk senyawa amorf, higroskopis, dapat larut dalam air, dapat diekstrak dengan pelarut campuran etanol-air atau air panas, dan memiliki warna coklat kekuningan. Tanin terhidrolisis digolongkan menjadi 2 jenis, yaitu gallotanin dan ellagitanin. Gallotanin terdiri atas senyawa asam galat-glukosa, sedangkan ellagitanin terdiri atas elagit-glukosa (Hersila dkk., 2023). Tanin bersifat polar dan dapat larut dalam pelarut air, etanol, dan metanol (Nofita dan Dewangga, 2021).

Fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki satu atau lebih aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolik bersifat polar dan dapat larut ke dalam pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol (Alfauzi dkk., 2022). Senyawa fenolik memiliki ciri khas yaitu memiliki cincin aromatik dengan rantai cabang hidroksil (OH) dan rantai turunan seperti ester, metil eter, glikosida, dan lainnya (Nadhira dan Cahyana, 2023).

C. Standardisasi Simplisia

Standardisasi simplisia adalah persyaratan standar yang telah ditetapkan untuk mewujudkan reproduktibilitas terhadap kualitas farmasetik maupun terapeutik (Idroes dkk., 2019). Tujuan standardisasi simplisia untuk memperoleh simplisia yang berkualitas dari produk yang terstandar, sehingga produk memiliki kualitas baik dan dapat digunakan sebagai bahan obat (Amlia dan

Hazar, 2022). Parameter spesifik pada standardisasi simplisia terdiri atas 5 yaitu identifikasi simplisia, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, organoleptis, dan uji kandungan kimia simplisia (Maryam dkk., 2020).

Identifikasi simplisia dilakukan dengan cara mendeskripsikan tata nama simplisia yang digunakan meliputi nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan. Parameter organoleptik dilakukan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, bau, warna, rasa, dan ukuran (Maryam dkk., 2020). Parameter kadar sari larut etanol dan air dilakukan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang dapat larut dalam air atau bersifat polar, dan senyawa aktif yang dapat larut dalam etanol atau bersifat non polar. Parameter uji kandungan kimia simplisia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid, serta saponin pada simplisia dan ekstrak secara kualitatif (Utami dkk., 2020).

Parameter non spesifik pada standardisasi simplisia yaitu susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan cemaran mikroba. Parameter susut pengeringan dilakukan untuk memberikan rentang besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan dimana pengukuran susut pengeringan dilakukan setelah pengeringan pada suhu 105 °C hingga berat konstan yang dinyatakan dalam nilai persen. Parameter kadar abu total dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak dimana semakin tinggi kadar abu yang diperoleh maka kandungan mineral pada bahan

semakin tinggi. Parameter kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk menyatakan adanya kontaminasi mineral atau logam yang tidak larut asam pada suatu produk, jika kadar abu tidak larut asam memiliki kadar yang tinggi maka terdapat kontaminasi silikat dari tanah atau pasir, tanah, dan unsur logam perak, timbal, dan merkuri. Parameter bobot jenis dilakukan untuk menyatakan adanya kandungan kimia yang terlarut pada suatu ekstrak (Utami dkk., 2020).

Parameter kadar abu total menunjukkan kemurnian atau kebersihan dari sampel simplisia dimana nilai kadar abu total yang baik yaitu tidak lebih dari 8% (Evifania dkk., 2020). Parameter cemaran mikroba dilakukan untuk menjamin ekstrak tidak mengandung cemaran mikroba seperti jamur dan bakteri dengan jumlah tidak melebihi batas yang ditetapkan dimana batas maksimum cemaran bakteri yaitu kurang dari 10.000 koloni/g dan cemaran kapang yaitu kurang dari 1.000 koloni/g. Parameter kadar air dilakukan untuk penetapan residu air setelah proses pengeringan dimana kadar air lebih dari 10% menyebabkan mikroba dapat tumbuh dan menurunkan stabilitas ekstrak (Utami dkk., 2020).

D. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa kimia pada suatu bahan yang dapat larut menggunakan pelarut. Tujuan ekstraksi untuk menarik senyawa metabolit sekunder pada bahan alam. Prinsip ekstraksi yaitu senyawa aktif pada sel sampel akan terlarut di dalam pelarut, sehingga terjadi konsentrasi senyawa terlarut di dalam dan di luar sel (Nasyanka dkk., 2020).

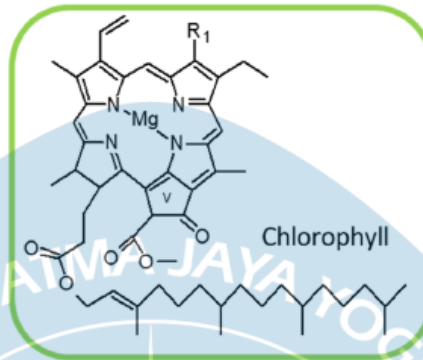
Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu maserasi, digesti, perkolasi, sokletasi, dan refulks (Supomo dkk., 2019). Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi berdasarkan sifat polaritas yakni pelarut yang bersifat semipolar dapat melarutkan komponen kimia suatu sampel yang bersifat polar hingga non polar dengan jumlah maksimum. Ekstraksi umumnya dilakukan menggunakan perbandingan 2 pelarut dengan sifat polaritas berbeda yang berkontak secara langsung pada distribusi zat terlarut dalam senyawa aktif suatu sampel (Handoyo, 2020).

E. Klorofil

Klorofil merupakan pigmen warna hijau yang ditemukan pada tanaman untuk proses fotosintesis. Klorofil ditemukan pada tanaman tingkat tinggi, pakis, lumut, alga, dan organisme prokariota. Klorofil berfungsi sebagai antioksidan, membantu terjadinya detoksifikasi, antipenuaan dan antikanker. Klorofil termasuk senyawa non polar (Aulia dkk., 2023).

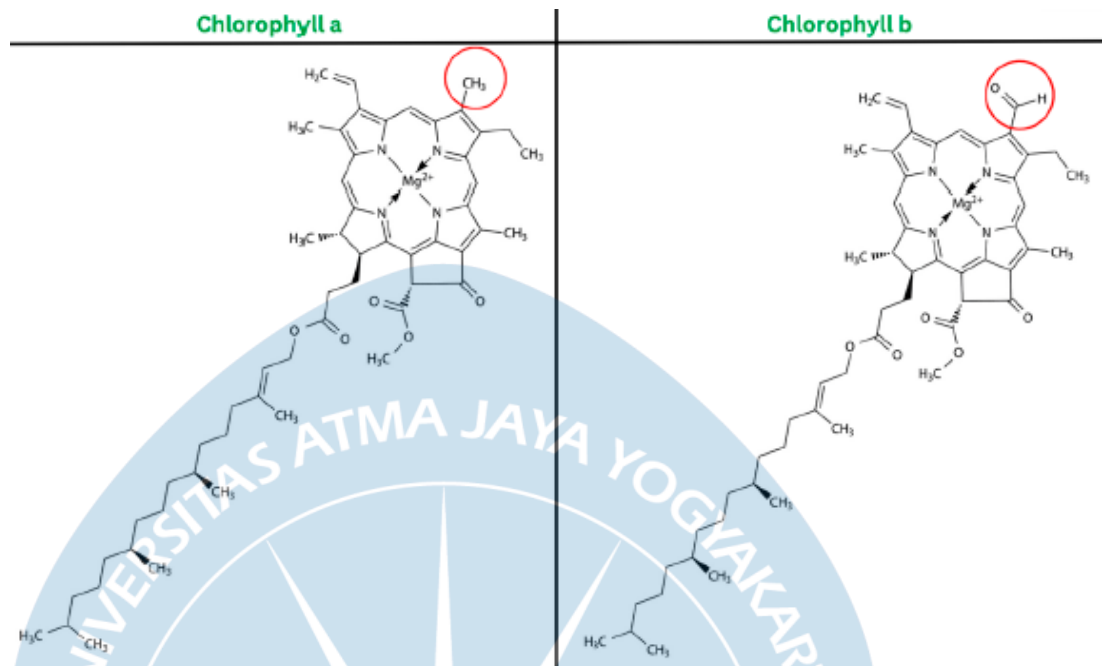
Klorofil memiliki karakteristik struktur porfirin yang tersusun atas empat cincin pirol (C_4H_4NH) yang berikatan dengan ion magnesium di posisi pusat dengan rantai alkil hidrofobik panjang. Klorofil memiliki satu ikatan ganda yang tereduksi yang ditemukan pada magnesium yang terikat pada cincin tetrapirrol yang disebut sebagai klorin. Klorofil memiliki 2 bagian molekul, yaitu kepala porfirin yang bersifat hidrofilik dan ekor fitol yang bersifat lipofilik. Bagian ekor fitol memiliki rantai hidrokarbon yang tidak

dapat larut pada pelarut polar (Ebrahimi dkk., 2023). Struktur klorofil dapat dilihat pada Gambar 3 (Viera dkk., 2021).



Gambar 3. Struktur Klorofil (Viera dkk., 2021).

Klorofil bersifat amfipatik, yaitu molekul klorofil memiliki dua bagian berbeda seperti bagian hidrofilik yang bersifat polar dan bagian lipofilik yang bersifat non polar. Berdasarkan strukturnya klorofil dikelompokkan menjadi klorofil a dan klorofil b. Klorofil a memiliki struktur kimia $C_{55}H_{72}MgO_5N_4$ yang termasuk kelompok metil ($-CH_3$) pada posisi karbon 7. Klorofil b memiliki struktur kimia $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$ yang termasuk kelompok aldehida ($-CHO$) pada posisi yang sama. Struktur klorofil a dan b dapat dilihat pada Gambar 4 (Ebrahimi dkk., 2023).



Gambar 4. Struktur Klorofil a dan b (Ebrahimi dkk., 2023).

Klorofil pada tanaman tingkat tinggi terdiri atas 2 jenis yaitu klorofil a dan klorofil b. Klorofil a memiliki sifat yang kurang polar dibandingkan klorofil b dengan warna hijau biru, sedangkan klorofil b bersifat lebih polar dibandingkan klorofil a dengan warna hijau kuning. Klorofil a berfungsi untuk menyerap cahaya dan menyediakan energi selama proses fotosintesis. Klorofil b berfungsi untuk mengumpulkan cahaya yang akan diteruskan ke klorofil a selama proses fotosintesis (Aulia dkk., 2023).

Klorofil merupakan pigmen hijau yang digunakan untuk menangkap energi cahaya matahari selama proses fotosintesis. Klorofil dapat mengalami perubahan warna karena adanya degradasi yang dikatalisis oleh enzim klorofil dan enzim de-magnesium. Enzim klorofil mengkatalisis phthalein pada klorofil a dan mengubahnya menjadi demetil klorofil dan alkohol klorofil yang menyebabkan pigmen klorofil menjadi tidak stabil dan rentan terhadap

degradasi. Enzim de-magnesium chelatase mengkatalisis penghilangan ion magnesium pada klorofil a dan menghasilkan de-magnesium klorofil a (Zhang dkk., 2025).

Hasil dari katalisis oleh enzim de-magnesium menyebabkan pheophyll a lebih rendah dibandingkan klorofil a, sehingga pheophyll a lebih rentan terhadap oksidasi. Enzim pheophyllase oksigenase dan reduktase metabolit klorofil merah akan mengurai pheophyll a dan membentuk metabolit klorofil yang berfluoresensi. Metabolit klorofil yang berfluoresensi menyebabkan pigmen hijau akan berubah menjadi warna cokelat atau kuning (Zhang dkk., 2025).

F. Deklorofilasi

Deklorofilasi merupakan proses untuk menghilangkan klorofil dari ekstrak tanaman. Deklorofilasi dapat dilakukan menggunakan pelarut n-heksan, kromatografi kolom, dan presipitasi, namun ketiga metode ini termasuk mahal, tidak ramah lingkungan, dan membutuhkan waktu yang lama (Pebriana dkk., 2017). Deklorofilasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan (Hadi dkk., 2022). Prinsip deklorofilasi menggunakan pelarut n-heksan adalah klorofil dapat larut dalam pelarut n-heksan dan kadar klorofil pada ekstrak dapat berkurang (Susanti dkk., 2022).

Deklorofilasi juga dapat dilakukan dengan metode elektrokoagulasi dan pemisahan cair-cair (Pebriana dkk., 2017). Deklorofilasi dengan metode

pemisahan cair-cair menggunakan pelarut yang bersifat non polar seperti n-heksan (Lestari dkk., 2020). Metode pemisahan cair-cair menggunakan pelarut n-heksan memiliki kelebihan yaitu klorofil dapat larut dalam n-heksan dan kadar klorofil pada ekstrak daun dapat berkurang (Susanti dkk., 2022).

Heksan memiliki molekul kimia C_6H_{14} yang mencakup lima isomer, yaitu n-heksan, *2-methylpentane*, *3-methylpentane*, *2,2-dimethylbutane*, dan *2,3-dimethylbutane*. n-Heksan merupakan cairan tanpa warna yang mudah menguap (Cravotto dkk., 2022). n-Heksan bersifat non polar, sehingga cocok digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi senyawa non polar (Baky dkk., 2025). Pelarut non polar seperti n-heksan dapat berinteraksi dengan klorofil karena klorofil memiliki bagian ekor fitol yang bersifat lipofilik, sehingga pelarut non polar dapat menarik dan melarutkan bagian lipofilik klorofil (Ramzan dkk., 2025). Struktur n-heksan dapat dilihat pada Gambar 5 (Cravotto dkk., 2022).



Gambar 5. Struktur n-heksan (Cravotto dkk., 2022).

Deklorofilasi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan dapat berpengaruh pada jumlah klorofil yaitu ekstrak yang telah dideklorofilasi akan menghasilkan jumlah klorofil yang sedikit. Penurunan % absorbansi klorofil pada ekstrak juga dipengaruhi oleh penambahan jumlah ekstraksi menggunakan n-heksan. Ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu, dan mangga sebanyak 200 mL dideklorofilasi menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 50 mL dan mengalami penurunan % absorbansi klorofil yang signifikan secara berturut-turut yakni $77,5 \pm 1,6$; $86,6 \pm 2,6$ dan $51,8 \pm 1,4$ %.

Ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu, dan mangga sebanyak 200 mL dideklorofilasi menggunakan teknik elektrokoagulasi dengan jenis elektroda tembaga, perak, aluminium, dan besi selama 300 menit. Deklorofilasi menggunakan teknik elektrokoagulasi lebih menurunkan % absorbansi klorofil daun kenikir, mengkudu, dan mangga secara berturut-turut yaitu $21,9 \pm 1,5\%$, $10,9 \pm 0,3\%$, dan $17,5 \pm 0,6\%$ (Pebriana dkk., 2017).

Ekstrak etanol *Turbinaria ornata* dideklorofilasi cair-cair menggunakan pelarut petroleum eter dengan perbandingan 5:2. Hasil dari deklorofilasi ini menurunkan jumlah klorofil pada ekstrak. Ekstrak etanol *Turbinaria ornata* sebelum deklorofilasi memiliki jumlah klorofil sebesar $37,77 \pm 0,44$ μg klorofil/g dan ekstrak yang telah dideklorofilasi mengalami penurunan jumlah klorofil menjadi $25,14 \pm 0,27$ μg klorofil/g (Rattaya dkk., 2015).

Ekstrak etanol daun kirinyuh dideklorofilasi menggunakan metode partisi padat-cair dengan pelarut n-heksan. Ekstrak sebelum deklorofilasi memiliki kadar flavonoid total sebesar $57,5483 \pm 0,1185$ mg QE/g ekstrak, sedangkan ekstrak deklorofilasi daun kirinyuh sebesar $37,9122 \pm 0,0972$ mg QE/g ekstrak (Risiana dkk. (2021). Ekstrak etanol daun *Anthodeista schweinfurthii* Gilg (AsG) dideklorofilasi menggunakan metode elektrokoagulasi yang menghasilkan kadar tanin total ekstrak sebelum deklorofilasi sebesar 966,55 mg TAE/g ekstrak dan sesudah deklorofilasi mengalami penurunan kadar tanin menjadi 276,64 mg TAE/g ekstrak (Tsopjio dkk., 2020). Ekstrak etanol daun jambu biji, ekstrak kloroform terdeklorofilasi,

dan ekstrak daun jambu biji yang dideklorofilasi menggunakan metode partisi cair-cair dengan pelarut kloroform mengalami peningkatan total fenolik secara berturut-turut sebesar $9,11 \pm 0,84$; $23,27 \pm 0,95$; dan $25,94 \pm 1,67$ mg GAE/g ekstrak (Singh dkk., 2023).

Ekstrak yang telah dideklorofilasi menghasilkan daya antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak yang tidak dideklorofilasi (Werdyani dkk., 2019). Antioksidan mengalami peningkatan pada ekstrak hasil deklorofilasi karena senyawa pengganggu seperti klorofil telah dihilangkan, sehingga senyawa fenolik lebih terkonsentrasi setelah klorofil dihilangkan (Benjakul dkk., 2014). Penghilangan klorofil pada ekstrak berdampak pada kandungan senyawa fenolik (termasuk flavonoid dan tanin) yang menyebabkan kandungan senyawa fenolik pada ekstrak lebih murni, sehingga tetap ditemukan aktivitas antioksidan pada ekstrak deklorofilasi (Tagrida dan Benjakul, 2020).

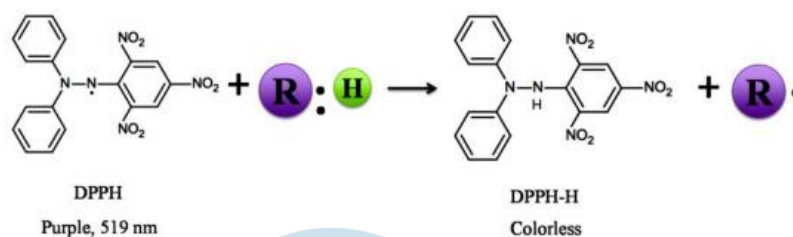
G. Antioksidan

Salah satu sasaran dari produk kosmetikal saat ini adalah produk yang memiliki antioksidan yang kuat untuk meredam radikal bebas akibat paparan sinar UV (Aprilliani dkk., 2022). Radikal bebas adalah senyawa reaktif yang memiliki kemampuan dalam merusak suatu jaringan dari lingkungan yang tidak sehat yang mengakibatkan munculnya suatu penyakit. Radikal bebas dapat dicegah dengan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan menghambat pembentukan reaksi berantai

radikal bebas yang mengakibatkan stress oksidatif. Aktivitas antioksidan dapat diketahui menggunakan metode radikal bebas *DPPH* (Ahmad dkk., 2022).

Aktivitas antioksidan dapat diketahui melalui uji peredaman *DPPH* (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). *DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) merupakan salah satu jenis radikal bebas sintetik yang bersifat larut pada senyawa polar seperti etanol dan methanol (Aryanti dkk., 2021). Metode peredaman *DPPH* digunakan untuk mengukur aktivitas daya antioksidan karena memiliki beberapa kelebihan yaitu metode sederhana, cepat, dan tidak memerlukan reagen yang banyak seperti xantin, oksidase, tiosianat, dan antioksidan total. Aktivitas peredaman radikal bebas dapat ditentukan dengan cara melihat perubahan warna *DPPH* yang diukur dengan alat spektrofotometer (Sulastris dkk., 2022).

Radikal *DPPH* termasuk radikal bebas yang pada suhu kamar bersifat stabil dan dapat digunakan untuk mengukur aktivitas daya antioksidan dari ekstrak bahan alam. Kelebihan dari metode peredaman *DPPH* yaitu sederhana, sensitif, cepat, dan reproduktibel. Prinsip metode peredaman *DPPH* yaitu menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 515 hingga 520 nm untuk melihat adanya perubahan warna mendasar yang menandakan adanya sifat daya antioksidan (Puspita dkk., 2020). Reaksi kimia radikal *DPPH* dapat dilihat pada Gambar 6 (Wonorahardjo dkk., 2023).



$\text{R}\cdot$ represents antioxidant

Gambar 6. Reaksi Kimia Radikal DPPH (Wonorahardjo dkk., 2023).

Radikal *DPPH* dengan nitrogen organik berwarna ungu gelap dan ketika direduksi akan berubah warna menjadi kuning yang menunjukkan perubahan bentuk non radikal. Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dalam *Inhibition concentration 50%* (IC_{50}). IC_{50} merupakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dapat meredam radikal bebas *DPPH* sebesar 50%. Nilai IC_{50} yang semakin kecil maka aktivitas antioksidan suatu senyawa semakin tinggi. Sifat aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 1 (Puspita dkk., 2020).

Tabel 1. Sifat Aktivitas Antioksidan

Sifat Aktivitas Antioksidan	Nilai IC_{50} (mg/L)
Sangat Tinggi	Kurang dari 50
Tinggi	50-100
Sedang	100-150
Rendah	Lebih dari 150

H. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka tersebut, maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Proses deklorofilasi dapat menurunkan kadar klorofil pada ekstrak daun harendong bulu sekitar 12 μg klorofil/g ekstrak.

2. Kadar senyawa fitokimia flavonoid ekstrak sesudah deklorofilasi mengalami penurunan sekitar 19 mg QE/g ekstrak, kadar senyawa tanin pada ekstrak sesudah deklorofilasi juga mengalami penurunan sekitar 689 mg TAE/g ekstrak, dan kadar fenolik pada ekstrak sesudah deklorofilasi mengalami kenaikan dibandingkan ekstrak sebelum deklorofilasi.
3. Aktivitas antioksidan ekstrak harendong bulu sebelum dan sesudah deklorofilasi sangat kuat dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L.

