

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI PADA PANJANG GELOMBANG
OPTIMUM UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmannii*) METODE DPPH DENGAN
*MICROPLATE READER***



**PUTRI WULANDARI
NIM.19032042/2019**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2023**

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI PADA PANJANG GELOMBANG
OPTIMUM UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmannii*) METODE DPPH DENGAN
MICROPLATE READER**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar

Sarjana Sains



Oleh :

PUTRI WULANDARI

NIM.19032042/2019

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2023**

PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI WAKTU INKUBASI PADA PANJANG GELOMBANG OPTIMUM UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) METODE DPPH DENGAN **MICROPLATE READER**

Nama : Putri Wulandari
Nim/TM : 19032042/2019
Program studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

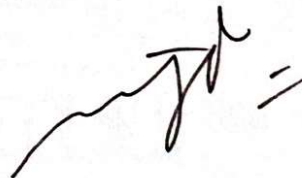
Padang, 9 Mei 2023

Mengetahui:
Ketua Departemen Biologi

Disetujui Oleh :
Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri S.Si., M.Biomed
NIP.197508152006042001



Dr. dr. Elsa Yuniarti, S.Ked., M.Biomed., AIFO-K
NIP.198206232008 122002


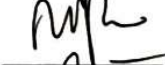
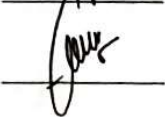
PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Putri Wulandari
Nim/TM : 19032042/2019
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

OPTIMASI WAKTU INKUBASI PADA PANJANG GELOMBANG OPTIMUM UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) METODE DPPH DENGAN MICROPLATE READER

*Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Departemen Biologi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang*

Padang, 9 Mei 2023

Tim Penguji	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr.dr.Elsa Yuniarti,S.Ked.,M.Biomed.,AIFO-K	
2. Anggota	: Dr.Moralita Chatri, M.P	
3. Anggota	: Siska Alicia Farma, S.Pd.,M.Biomed	

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Putri Wulandari
NIM : 19032042
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "Optimasi Waktu Inkubasi pada Panjang Gelombang Optimum Uji Aktivitas Antioksidan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Metode DPPH dengan *Microplate Reader*" adalah benar hasil karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah

Padang, 9 Mei 2023

Mengetahui:
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan



Putri Wulandari
NIM. 19032042

**Optimasi Waktu Inkubasi pada Panjang Gelombang Optimum
Uji Aktivitas Antioksidan Kayu Manis (*Cinnamomum
Burmannii*) Metode DPPH dengan *Microplate Reader***

Putri Wulandari

ABSTRAK

Kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*) salah satu tanaman rempah yang mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, tannin, kuinon, saponnin dengan potensial aktivitas antioksidan alami. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Penelitian ini bertujuan mengoptimasi waktu inkubasi pada panjang gelombang optimum uji aktivitas antioksidan kayu manis (*C.burmannii*) metode DPPH dengan *microplate reader*.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode DPPH dengan *microplate reader*. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2022 - Februari 2023 di Laboratorium Bioteknologi dan Genetika, Departemen Biologi, Universitas Negeri Padang dan Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas. Bahan yang digunakan yaitu kulit kayu manis dioptimasi dengan variasi waktu inkubasi pada pengukuran dua panjang gelombang. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar, tabel dan grafik.

Hasil optimasi waktu inkubasi uji aktivitas antioksidan ekstrak *methanol* kulit kayu manis (*C.burmannii*) dengan *microplate reader* diperoleh waktu inkubasi optimal 30 menit dengan IC_{50} 44,6 $\mu\text{g/ml}$ pada vitamin C IC_{50} 3,6 $\mu\text{g/ml}$ memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: Antioksidan, Kayu manis, DPPH, *Microplate reader*

Optimization of Incubation Time at Optimum Wavelength of Antioxidant Activity Test of Cinnamon (*Cinnamomum Burmannii*) DPPH Method with *Microplate Reader*

Putri Wulandari

ABSTRACT

Cinnamon (*Cinnamomum Burmannii*) is a spice plant that contains secondary metabolite compounds including flavonoids, tannins, quinones, and saponins with potential natural antioxidant activity. Antioxidant activity measurement was conducted using DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) method. This study aims to optimize the incubation time at the optimum wavelength of cinnamon (*C.burmannii*) antioxidant activity test DPPH method with a microplate reader.

This research is descriptive. The method used in this research is the DPPH method with a microplate reader. The research was conducted from December 2022 - February 2023 at the Biotechnology and Genetics Laboratory, Department of Biology, Padang State University and Biomedical Laboratory, Faculty of Medicine, Andalas University. The material used, namely cinnamon bark, was optimized by varying the incubation time for measuring two wavelengths. The data obtained are presented in the form of figures, tables, and graphs.

The results of optimization of incubation time for antioxidant activity test of methanol extract of cinnamon bark (*C.burmannii*) with a microplate reader obtained optimal incubation time of 30 minutes with IC_{50} 44.6 μ g/ml on vitamin C IC_{50} 3.6 μ g/ml has very strong antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, Cinnamon, DPPH, Microplate reader

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya serta kesehatan lahir dan bathin sehingga dengan ridho-Nya penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Waktu Inkubasi pada Panjang Gelombang Optimum Uji Aktivitas Antioksidan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Metode DPPH dengan *Microplate Reader*”. Shalawat beserta salam untuk arwah Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu DR. Dr.dr Elsa Yuniarti, S.Ked.,M.Biomed AIFO-K selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dalam melaksanakan penelitian dan mengarahkan penulisan dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Moralita Chatri M.P dan ibu Siska Alicia Farma S.Pd. M.Biomed selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi.
3. Ibu Irma Leilani Eka Putri, S.Si, M.Si selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan masukan selama perkuliahan hingga sampai saat ini.

4. Bapak dan Ibu Staf Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi
5. Orang tua tercinta, Ayahanda Patrius dan ibunda Winda Sari atas doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap perjalanan penulis. .
6. Seluruh teman-teman dan tim penelitian serta angkatan tahun 2019 atas kebersamaan dan dukungan kepada penulis.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, semoga bantuan yang telah bapak/ibu serta rekan-rekan berikan menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam penelitian berikutnya.

Padang, 12 April 2023

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II KAJIAN PUSTAKA	6
A. Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).....	6
B. Tanaman Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....	9
C. Antioksidan	11
BAB III METODE PENELITIAN	14
A. Jenis penelitian	14
B. Waktu dan tempat.....	14
C. Alat dan bahan	14
D. Prosedur Penelitian	15
E. Analisis Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. Hasil	19
B. Pembahasan	21
BAB V PENUTUP	25
A. Kesimpulan.....	25
B. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi tingkatan kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}	18
2. Hasil optimasi waktu inkubasi	19
3. Hasil pembacaan dua panjang gelombang optimum	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme reaksi radikal DPPH (<i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</i>)6	
2. Tanaman Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....9	
3. Komposisi Kimia Kulit Kayu Manis10	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan pembuatan larutan uji aktivitas antioksidan	32
2. Bagan Alur Penelitian	33
3. Gambaran aktivitas antioksidan	34
4. Grafik regresi linear aktivitas antioksidan kayu manis	35
5. Data absorban vitamin C dan tanaman kayu manis.....	38
6. Dokumentasi Penelitian	42

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Metode umum pengujian aktivitas antioksidan pada suatu sampel adalah metode peredaman radikal DPPH (1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH adalah teknik penentuan kapasitas antioksidan yang bersifat stabil dengan indikator perubahan warna larutan DPPH ungu menjadi kuning akibat ditandai adanya proses reduksi (Aisyah *et al.*, 2022). Proses reduksi terjadi karena adanya transfer atom *hydrogen* dan elektron yang mengakibatkan warna ungu DPPH berkurang. Metode evaluasi lainya dalam pengukuran aktivitas antioksidan diantaranya FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), *Total Phenolics Content*, ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*), CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*), TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) (Aryanti *et al.*, 2021).

Metode pengukuran aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan metode lain. Metode DPPH cenderung lebih sederhana, kemudahan aplikasi, kestabilan radikal, dan reaktivitas (Riskiana & Vifta, 2021). Menurut Fu *et al.*, (2023) metode DPPH lebih efektif dibandingkan dengan metode lain dalam mekanisme menangkal radikal senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel karena radikal yang digunakan lebih stabil. Theafelicia & Wulan, (2023) juga menyatakan bahwa metode DPPH dapat memberikan sebuah gambaran sistem pertahanan tubuh dalam meredam senyawa radikal sehingga peneliti lebih memilih metode DPPH sebagai metode utama dibandingkan metode lain dalam uji aktivitas antioksidan. Adapun kekurangan

dari metode tersebut, seperti peka terhadap cahaya, mudah terkoagulasi, beberapa jenis antioksidan reaksi berjalan lambat dan hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik (Mu'Nisa, 2022).

Interprestasi uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan variable dan persentase hasil hambatan dinyatakan berdasarkan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) (Muzuka *et al.*, 2018). Peneliti sebelumnya telah banyak uji aktivitas antioksidan pada suatu sampel menggunakan metode DPPH. Penelitian Meilastri, (2017) uji aktivitas pada ekstrak rumput gandum (*Triticum aestivum* L.) menggunakan metode DPPH dengan alat spektrofotometer *UV-Vis*. Sani, (2022) juga menganalisa aktivitas antioksidan *ecoenzyme* variasi kulit jeruk dengan metode DPPH dengan spektrofotometer. Penelitian yang dilakukan tersebut menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dengan suatu obyek kaca atau kuvet sehingga sangat ketergantungan pada jumlah reagen.

Alat analisa kuantitatif uji aktivitas antioksidan lainnya dengan banyak sampel sehingga hemat penggunaan reagen dalam sekali pengujian dimodifikasi dengan berbasis *microplate* yaitu *microplate reader* (Hikmawanti *et al.*, 2023). Beberapa peneliti lainnya Fadhli & Ikhsan, (2019) uji aktivitas fitokimia dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang Garunggang bunga *Cratoxylum arborecens* (Vahl) dengan metode DPPH menggunakan *microplate reader* 96 *wells*. Penelitian Wardaniati & Yanti, (2020) uji aktivitas antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Trigona (*Trigona itama*) metode DPPH dengan menempatkan sampel pada sumuran 96 *wells* dan dibaca oleh detektor menghasilkan absorban secara seluruhan sehingga waktu analisa relatif lebih cepat dan hemat dalam pemakaian reagen dibandingkan spektrofotometer *UV-Vis*.

Tumbuhan komoditas di Indonesia yang bergolongan rempah yang potensial aktivitas antioksidan adalah kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Kayu manis adalah salah satu tanaman berkayu termasuk dalam family Lauraceae dari genus *Cinnamomum* (Maulana *et al.*, 2022). Dimana Asrini *et al.*, (2021) menyatakan bagian tanaman kayu manis yang bisa dimanfaatkan antara lain kulit kayu, daun, ranting dan dahan sehingga memiliki banyak manfaat, sehingga tingkat produksi kayu manis di Indonesia menempati urutan pertama dunia. Hal ini disebabkan tanaman kayu manis memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, tannin, kuinon dan saponnin sehingga menunjukkan terdapat aktivitas antioksidan (Sarjono *et al.*, 2020).

Senyawa antioksidan sangat rentan mengalami perubahan karena bersifat sensitif dan tidak stabil cenderung mudah mengalami degradasi, adapun faktor yang dapat menjadi faktor yang menyebabkan antioksidan mengalami degradasi yaitu konsentrasi, cahaya, dan substrat (Fauzi *et al.*, 2022). Menurut Asbanu *et al.*, (2019) waktu inkubasi dan panjang gelombang optimum juga penyebab lain yang akan mempengaruhi hasil uji dan kestabilan reaksi antara ekstrak sampel dengan radikal DPPH. Waktu inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan reagen DPPH untuk bereaksi sempurna dengan larutan uji sedangkan panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimal (Wulandari *et al.*, 2020). Namun menurut beberapa literature waktu inkubasi yang direkomendasikan selama 30 menit, sehingga sangat terbatas dalam mengoptimalkan waktu inkubasi pada panjang gelombang dengan metode DPPH menggunakan *microplate reader* karena metode tersebut tidak dapat mengukur kapan reaksi berakhir.

Berdasarkan latar belakang diatas penelitian ini bertujuan untuk melihat variasi waktu inkubasi pada pembacaan dua panjang gelombang agar meminimalisasi pengaruh perbedaan waktu dalam penambahan reagen DPPH dengan desain riset ekstrak tanaman kayu manis pada *microplate reader*. Maka perlu untuk dilakukan penelitian dengan judul “Optimasi Waktu Inkubasi Uji Aktivitas Antioksidan pada Panjang Gelombang Optimum Uji Aktivitas Antioksidan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Metode DPPH dengan *Microplate reader*”

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Berapa waktu inkubasi optimum uji aktivitas antioksidan kayu manis (*C. burmannii*) metode DPPH dengan *microplate reader*.
2. Berapa panjang optimum uji aktivitas antioksidan kayu manis (*C. burmannii*) metode DPPH dengan *microplate reader*.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan waktu inkubasi optimum uji aktivitas antioksidan kayu manis (*C. burmannii*) metode DPPH dengan *microplate reader*.
2. Mendapatkan hasil perbandingan 2 panjang gelombang optimum uji aktivitas antioksidan kayu manis (*C. burmannii*) metode DPPH dengan *microplate reader*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memberikan informasi ilmiah uji aktivitas antioksidan kulit kayu manis metode DPPH dengan *microplate reader* berdasarkan kondisi optimum.
2. Menambah wawasan dan perkembangan ilmu pengetahuan acuan awal untuk penelitian selanjutnya dalam pemanfaatan kayu manis khususnya di bidang kesehatan
3. Memberikan informasi kepada masyarakat terkait kandungan aktivitas antioksidan dan pemanfaatan terhadap kesehatan tubuh dalam menangkal radikal bebas.