

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Insulin (*Thitonia diversifolia*)

Tumbuhan Insulin merupakan tumbuhan perdu tegak yang dapat mencapai tinggi 9 meter, bertunas, dan merayap dalam tanah. Umumnya tumbuhan ini tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai, dan selokan. Tumbuhan insulin ini tumbuh dengan mudah ditempat dengan ketinggian 5-1500 meter di atas permukaan laut, juga merupakan tumbuhan tahunan yang menyukai tempat-tempat terang dan tumbuh di tempat yang terkena sinar matahari langsung. Tumbuhan Insulin atau dikenal juga dengan nama Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) umumnya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, antivirus, anti malaria, liver, dan radang tenggorokan, serta penggunaannya sebagai bahan pestisida. Daun Insulin mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, serta polifenol (Thitonia, 2022)



Gambar 2. 1 Tumbuhan Daun Insulin

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Menurut Thitonia, 2022 Klasifikasi tumbuhan insulin adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Suku	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Tithonia</i>
Spesies	: <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Graya

2.1.2 Nama Lain

Nama umum : Kembang bulan, Kipait, Paitan

Jawa : Rondo noleh, Rondosemoyo, Harsaga

Nama asing : Mexican Sunflower, Tree Marigold (Inggris) (Thitonia, 2022)

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan insulin (*Tithonia diversifolia*) ini merupakan tumbuhan perdu tegak yang dapat mencapai tinggi 9 meter, bertunas dan merayap dalam malam. Umumnya tumbuhan ini tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai dan selokan. Tumbuhan insulin ini tumbuh dengan mudah ditempat dengan ketinggian 5 - 1500 meter di atas permukaan laut, juga merupakan tumbuhan tahunan yang menyukai tempat-tempat terang dan tumbuh di tempat yang terkena sinar matahari langsung (Thitonia, 2022).

Daun tunggal dan berseling, dengan panjang 26 - 32 cm dan lebar 15 - 25 cm. Bagian ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun bergerigi, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau. Bunga merupakan bunga majemuk, di ujung ranting, tangkai bulat, kelopak bentuk tabung. Perbungan muncul di ketiak daun atau ujung percabangan, kepala sari berwarna hitam dan di bagian atasnya berwarna kuning. Buah kotak berbiji bulat dan keras. Jika masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat. Bijinya bulat, keras, dan berwarna coklat. Akarnya berupa akar tunggang berwarna putih kotor (Ryan et al., 2013).

2.1.4 Kandungan dan Manfaat

Daun Insulin atau dikenal juga dengan nama Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) biasanya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari manfaat daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, antivirus, anti malaria, liver, dan radang tenggorokan, serta penggunaannya sebagai bahan pestisida. Pada daun Insulin terkandung beberapa senyawa seperti alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, serta polifenol (Thitonia, 2022).

2.2 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga, dan kecuali dinyatakan lain, berupa yang telah dikeringkan. Simplisia terbagi menjadi tiga komponen, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Ani et al., 2021).

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan, bagian hewan atau zat-zat yang berguna

dihasilkan hewan yang belum berupa bahan kimia murni, contohnya minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan (Mineral) adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Ani et al., 2021).

2.2.1 Pembuatan simplisia

Tahapan dalam pembuatan simplisia ada 7 yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (TEMA, 2018).

a. Pengumpulan bahan baku

Waktu panen berkaitan dengan pembentukan senyawa aktif dalam tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang baik adalah saat tanaman mengandung senyawa aktif yang besar. Senyawa aktif tanaman akan terbentuk dalam bagian tanaman atau pada waktu tertentu. Kadar senyawa aktif pada bagian tanaman tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman saat panen, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemisahan atau pemilahan kotoran atau benda asing dari tanaman segar. Misalnya pada bagian akar tanaman terdapat bahan-bahan asing seperti tanah, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan bagian tanaman dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk membersihkan tanaman yang akan dibuat simplisia seperti tanah atau kotoran lainnya yang melekat pada simplisia. Proses pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti air dari mata air, air sumur atau air PAM. Tanaman yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian harus dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin. Proses sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

d. Perajangan

Tujuan dalam perajangan bahan simplisia adalah untuk mempermudah dalam proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum bahan simplisia dirajang, sebaiknya jangan langsung dirajang tetapi dijemur terlebih dahulu selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat

mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Apabila irisan terlalu tipis dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang dari tanaman.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi jumlah kadar air dalam tanaman untuk mencegah terjadinya kerusakan, penurunan mutu simplisia, dan agar simplisia dapat disimpan dalam waktu lama. Pengeringan simplisia dapat menggunakan alat pengering simplisia. Hal yang dapat diperhatikan saat proses pengeringan seperti suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Sebelum simplisia dilakukan penyimpanan dan pemeriksaan mutu maka simplisia harus dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda - benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan zat pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses sortasi kering dapat dilakukan dengan tangan atau secara mekanik.

g. Penyimpanan

Tujuan dari penyimpanan adalah untuk menghindari kerusakan simplisia karena ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan simplisia rusak seperti cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Penyebab utama terjadinya kerusakan pada simplisia disebabkan oleh air dan kelembaban. Kerusakan simplisia dapat menurunkan mutu sehingga tidak sesuai dengan syarat simplisia. Dalam penyimpanan harus diperhatikan dalam hal yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya.

h. Pemeriksaan mutu

Simplisia yang diperoleh harus dalam bentuk simplisia murni dan memenuhi persyaratan yang ada di buku farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia ataupun Materia Medika Indonesia edisi terakhir. Simplisia dikatakan bermutu jika persyaratannya masuk dalam buku - buku tersebut. Proses pemeriksaan mutu meliputi cara organoleptik, makroskopik dan atau cara kimia.

2.3 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang dihasilkan dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati dan simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya semua dan hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diprlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Sitotoksik et al., 2015).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Lapis et al., 2017).

2.3.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Penambahan ulang pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi (Syarif et al., 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyaringan simplisia menggunakan alat percolator dengan pelarut yang selalu baru samapi terjadi penyaringan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahapan maserat antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Syarif et al., 2013).

2.3.2 Cara Panas

a. Refkus

Refluks adalah proses penyaringan simplisia pada temperatur titik didihnya menggunakan alat dengan pendingin, baik dalam waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu (Cahyani, 2017).

b. Digesti

Digesti adalah proses pengadukan dan ekstraksi secara terus menerus pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, umumnya pada suhu 40-50°C (Cahyani, 2017).

c. Sokletasi

Sokletasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut baru, dilakukan dengan menggunakan alat khusus (soklet), pelarut akan mengembun dari labu ke pendingin kemudian jatuh membasahi sampel (Cahyani, 2017)

d. Infudasi

Infudasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit (Cahyani, 2017).

e. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 30 menit (Cahyani, 2017).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa dengan struktur molekul yang dapat mendonorkan elektron pada molekul radikal bebas dan memutus rantai reaksi radikal bebas. Antioksidan juga dapat diartikan sebagai bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat atau bahan yang dapat teroksidasi, walaupun memiliki jumlah yang sedikit dalam makanan atau tubuh jika dibandingkan dengan substrat yang akan teroksidasi. Antioksidan yang tergolong dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid, flafanoid memiliki kemampuan untuk mereduksi molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas (Puspitasari et al., 2016)

Antioksidan adalah senyawa yang pada konsentrasi rendah dapat secara signifikan menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi berantai. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas. Antioksidan dapat menyumbangkan elektron ke molekul radikal bebas, yang menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Contoh antioksidan adalah p-karoten, likopen, vitamin C, vitamin E, (Syarif et al., 2013).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai stabilitas atom atau molekul, radikal bebas bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk membentuk pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus-menerus di dalam tubuh dan jika tidak dikendalikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit jantung, penuaan dini dan penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu

substansi penting, yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Rustiah et al., 2018)

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami (antioksidan yang berasal dari bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang berasal dari sintesis reaksi kimia). Antioksidan kini dibagi menjadi tiga bagian menurut mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier (Cahyani, 2017)

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah propil galat, tokoferol alami maupun sintetik dan alkil galat (Cahyani, 2017).

Antioksidan sekunder merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi logam-logam seperti: Fe, Pb, Cu, dan Mn. Antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan (Cahyani, 2017).

Antioksidan tersier seperti enzim perbaikan DNA dan reduktase metionin sulfoksida membantu memperbaiki biomolekul yang rusak akibat radikal bebas. Kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas ditandai dengan lesi beruntai tunggal dan ganda, serta kelompok dasar dan non-dasar. Perbaikan kerusakan basa DNA yang diinduksi oleh spesies oksigen reaktif terjadi melalui perbaikan eksisi basa. Umumnya eksisi basa terjadi dengan menghancurkan basa yang rusak oleh DNA glikosilase (Cahyani, 2017).

2.5 Uji DPPH (1,1-dipenil-2-pikrihidrazil)

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrihydrazyl*) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak alami. Interaksi antioksidan dengan DPPH melalui transfer elektron atau radikal hidrogen DPPH menetralkan radikal bebas DPPH. Prinsip uji DPPH adalah warna yang mengukur kapasitas antioksidan yang dicapai oleh radikal DPPH dengan mengamati langsung absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer. Radikal nitrogen organik pekat DPPH merupakan radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang berubah menjadi kuning ketika antioksidan mereduksinya menjadi bentuk non-radikal (Lung et al., 2018).

Metode DPPH merupakan metode yang berulang kali digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan berbagai tanaman obat. Eliminasi radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi radikal bebas berwarna oleh inhibitor radikal. Menurut prinsip ini, reduksi absorpsi DPPH diukur pada panjang gelombang maksimumnya yang sebanding dengan konsentrasi inhibitor radikal yang ditambahkan pada kelarutan reagen DPPH. Aktivitas ini dinyatakan sebagai konsentrasi efektif, sebagai IC₅₀ atau konsentrasi penghambatan, IC₅₀ (Amelia, 2013).

Nilai IC₅₀ adalah angka yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi ($Y=AX+B$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 µg/ml, sedang jika IC₅₀ bernilai 100-150 µg/ml dan lemah jika IC₅₀ bernilai 151-200 µg/ml (Putri dkk, 2015).

Parameter untuk menentukan penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dinyatakan dengan parameter IC₅₀, yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan 50% penangkapan radikal bebas. Kelas aktivitas antioksidan yang kuat dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2. 1 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan

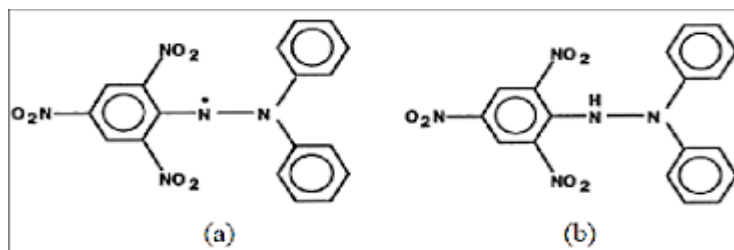
No	Kategori	Konsentrasi (µg/ml)
1.	Sangat kuat	<50
2.	Kuat	50-100
3.	Sedang	101—150
4.	Lemah	151-200

2.6 Penentuan Efek Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu pengujian yang dapat dilakukan untuk mengetahui potensi menangkap senyawa radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan banyak digunakan untuk

mengevaluasi aktivitas antioksidan berbagai senyawa atau ekstrak alami (Gurav et al., 2007).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen untuk membentuk molekul diamagenetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik melalui transfer elektron maupun radikal hidrogen DPPH menetralkan radikal bebas DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning muda dan absorbansi pada 516 nm hilang ketika semua elektron radikal bebas DPPH dipasangkan. Perubahan ini dapat diukur dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH karena adanya zat pereduksi. Zat tersebut memiliki sifat antioksidan jika IC₅₀ kurang dari 200 ppm. Jika nilai IC₅₀ yang diperoleh antara 200 dan 1000 ppm, zat tersebut kurang aktif tetapi masih berpotensi sebagai antioksidan (Molyneux, 2014).



Gambar 2. 2 Penentuan struktur DPPH dari radikal bebas (a) menjadi bentuk non radikalnya (b) (Sumber:Leliqia et al.,2020)

Durasi metode pengukuran DPPH adalah 60 menit menurut beberapa rekomendasi, namun waktu yang digunakan pada beberapa penelitian sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, dan 60 menit. Waktu reaksi yang tepat sebenarnya adalah pada saat reaksi telah mencapai kesetimbangan. Laju reaksi dipengaruhi oleh jenis aktivitas antioksidan dalam sampel. Metode ini biasanya digunakan untuk mengukur hasil reaksi atau pembentukan warna. Kestabilan komposisi produk diketahui dengan memantau penyerapan dari satu reaksi sampai tercapai penyerapan yang stabil (Molyneux, 2014).

Panjang gelombang maksimum (λ_{max}) yang digunakan dalam pengukuran uji sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur, panjang gelombang maksimum DPPH adalah antara 516-520 nm. Dalam prakteknya hasil pengukuran yang memberikan puncak maksimum adalah panjang gelombang di sekitar panjang gelombang tersebut. Absorbansi absolut tidak penting karena panjang gelombang dapat diatur ke absorbansi maksimum tergantung pada

instrumen yang digunakan. Di sekitar panjang gelombang maksimum, kurva kepunahan menjadi linier mematuhi hukum Beer-Lambert (Molyneux, 2014) .

2.7 Uji Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri serapan adalah teknik yang mengukur penyerapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap oleh zat. Spektrofotometri yang sering digunakan untuk mengukur serapan suatu larutan atau zat yang diteliti adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak (visible light) dengan panjang gelombang 400-800 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu interaksi sinar ultraviolet atau tampak dengan molekul sampel. Energi cahaya akan mengeksitasi elektron terluar molekul ke orbital lebih tinggi (Cahyani, 2017).

Langkah-langkah dalam penggunaan spektrofotometer ialah:

a. Pemilihan pelarut

Pelarut yang digunakan tidak mengandung sistem terkonjugasi dalam struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan memiliki kemurnian yang tinggi (Cahyani, 2017)

b. Pemilihan panjang gelombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimum, dibuat kurva hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang larutan standar pada konsentrasi tertentu (Cahyani, 2017).

c. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Jika kurva kalibrasi berupa garis lurus maka hukum Lambert-Beer terpenuhi (Cahyani, 2017).

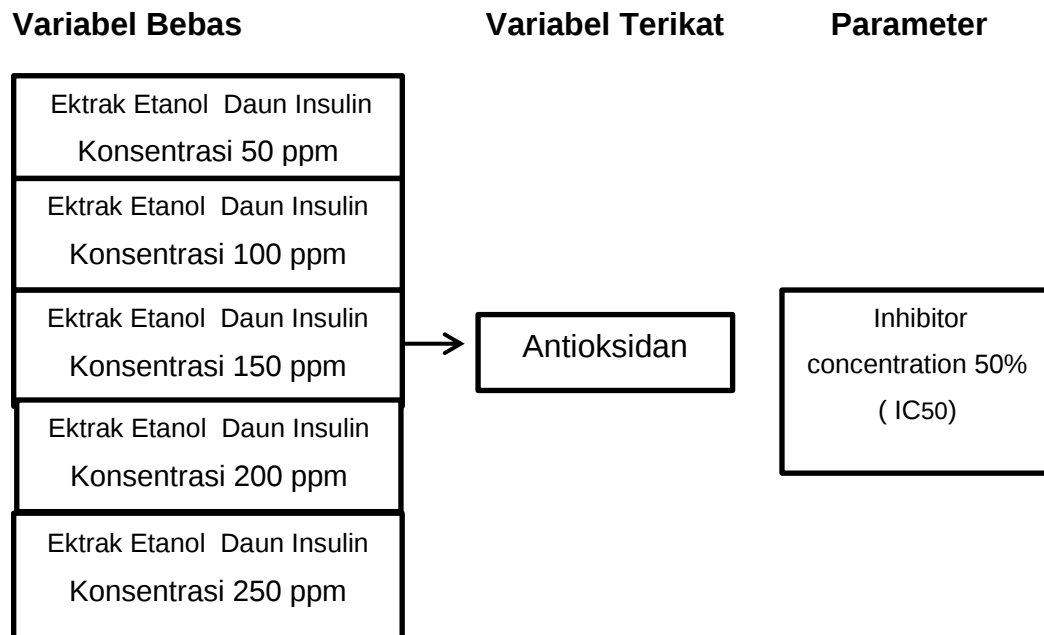
d. Pembuatan absorbansi sampel atau cuplikan

Pembuatan absorbansi spektrofotometri paling baik bila 0,2 - 0,8. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Cahyani, 2017).

e. Waktu operasional (Operating Time)

Tujuannya adalah untuk menemukan waktu pengukuran yang stabil. Pada awal reaksi, absorbansi senyawa berwarna ini meningkat selama periode waktu tertentu hingga tercapai absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran maka intensitas warna akibat penurunan daya serap (Cahyani, 2017).

2.8 kerangka konsep



Gambar 2. 3 Kerangka Konsep

2.9 Defenisi Operasional

- Ekstrak etanol daun insulin merupakan daun insulin yang sudah dipetik dan dicuci bersih lalu dibuat simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi memperoleh Ekstrak etanol daun insulin.
- Inhibitor konsentrasi 50% (IC₅₀)* merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%.

2.10 Hipotesis

Ekstrak etanol daun insulin memiliki efek Antioksidan pada konsentrasi tertentu yang diukur dengan metode DPPH dengan IC₅₀ <50%.