

**PENETAPAN KADAR TOTAL FENOL DAN FLAVONOID SERTA UJI  
AKTIVITAS ANTI AGING EKSTRAK HERBA APUH-APUHAN  
(*Azolla microphylla* K) MELALUI PENGHAMBATAN  
ENZIM KOLAGENASE SECARA *IN VITRO***



**SKRIPSI**

**TRIAS INDAH KUSTININGSIH  
(1408010111)**

**PROGRAM STUDI FARMAS  
IFAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
2018**

**PENETAPAN KADAR TOTAL FENOL DAN FLAVONOID SERTA UJI  
AKTIVITAS ANTI AGING EKSTRAK HERBA APUH-APUHAN  
(*Azolla microphylla* K) MELALUI PENGHAMBATAN  
ENZIM KOLAGENASE SECARA *IN VITRO***



**SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**TRIAS INDAH KUSTININGSIH  
1408010111**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

PENETAPAN KADAR TOTAL FENOL DAN FLAVONOID SERTA  
UJI AKTIVITAS ANTI AGING EKSTRAK HERBA APUH-APUHAN  
(*Azolla microphylla* K) MELALUI PENGHAMBATAN  
ENZIM KOLAGENASE SECARA *IN VITRO*

TRIAS INDAH KUSTININGSIH  
1408010111

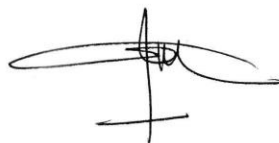
Telah disetujui dan diperiksa oleh pembimbing I dan II  
Yang bertanda tangan dibawah ini:

Pembimbing I



Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt.  
NIK.2160217

Pembimbing II



Wahyu Utamingrum, M.Sc., Apt.  
NIK. 2160515

HALAMAN PENGESAHAN


PENETAPAN KADAR TOTAL FENOL DAN FLAVONOID SERTA  
UJI AKTIVITAS *ANTI AGING* EKSTRAK HERBA *APUH-APUHAN*  
(*Azolla microphylla* K) MELALUI PENGHAMBATAN  
ENZIM KOLAGENASE SECARA *IN VITRO*

TRIAS INDAH KUSTININGSIH  
1408010111

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi  
Pada hari Kamis tanggal 23 Agustus 2018

SUSUNAN PANITIA

Ketua Sekretaris



Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt. Elza Suidhani, M.Sc., Apt.  
NIK.2160218 NIK.2160494

Penguji I Penguji II

Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt. Wahyu Utaminigrum, M.Sc., Apt.  
NIK.2160217 NIK. 2160515

Mengetahui  
Dekan Fakultas Farmasi



Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt.  
NIK.2160309

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Trias Indah Kustiningsih  
NIM : 1408010111  
Program Studi : Farmasi S1  
Fakultas : Farmasi  
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto,

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil dari karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar sertabukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsure penjiplakan, saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 17 Agustus 2018

Yang membuat pernyataan,



Trias Indah Kustiningsih

1408010111

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Bapak dan ibu saya, yang telah memeberikan dukungan moril maupun materi serta doa yang tiada henti untuk kesuksesan saya, karena tiada kata seindah lantunan doa dan tiada doa yang paling khusyuk selain doa yanag terucap dari orang tua. Ucapan terimakasih saja takkan cukup untuk membalas kebaikan orang tua, karena itu terimalah persembahan bakti dan cinta ku untuk kalian bapak ibu saya.
2. Ibu Wahyu Utaminingrum, M.Sc., Apt yang telah memberikan saya motivasi, bimbingan untuk menyelsaikan skripsi ini serta memberi tanaman *Azolla* kepada saya.
3. Ibu Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt yang telah membimbing dengan sabar , memotivasi saya untuk terus menyelesaikan skripsi ini.
4. Kedua kakak saya Aji Rahmatullah dan Frisky Almuksiti yang telah memberikan saya semangat dan mendengar keluh kesah selama ini.
5. Partner skripsi Isnaeni wardani dan Fifi Rahmawati yang telah bersama-sama bersabar dalam melakukan penelitian.
6. Sahabatku tercinta Vania Inez Zhafirah, Fadhilah Zahra Nadia, Cindy Tiara Rhamadani, Nanda Elfa Amelia, Nuzulia Nur Laeli, Nisa Nurul Mala, Tita Fitriani. Terimakasih atas segala yang telah kalian berikan kepada saya, kalian adalah sahabat luar biasa untuk saya.

## MOTTO

**“Kerjakan apa-apa yang ada dihadapanmu semaksimal mungkin maka masa depan akan ikut merencanakan”**

**“ Seseorang belum tentu bisa menolong semua orang, namun semua orang dapat menolong seseorang”**

**“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka pasti azab-Ku sangat berat”. [Ibrâhîm/14:7]**



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat sehat dan sempat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Total Fenol dan Flavonoid Serta Uji Aktivitas Anti Aging dari Ekstrak Herba Apuh-Apuhan (*Azolla microphylla* K) Melalui Penghambatan Enzim Kolagenase Secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana (S-1) di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Atas terselesaikannya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr.H.Syamsuhadi Irsyad, S.H.,M.H., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
2. Dr.Agus Siswanto, M.Si.,Apt. selaku Dekan Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
3. Wahyu Utaminingrum, M.Sc.,Apt selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi yang telah member berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana skripsi.
4. Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt dan Wahyu Utaminingrum, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengajaran, nasihat dan motivasi selama pembuatan skripsi.
5. Semua dosen dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
6. Bapak Tarisun dan Ibu Sundari selaku orang tua saya, atas perjuangannya mendidik saya dengan penuh kasih sayang.
7. Keluarga tercinta yang selalu percaya, terimakasih atas dukungan dan doanya.
8. Semua teman-teman Farmasi '14 yang telah banyak membantu selama ini.
9. Terimakasih untuk semua pihak yang telah terlibat dalam pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak penyusunan skripsi ini tidak akan berjalan baik, semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.Aamin.

Purwokerto,17 Agustus 2018

Penulis

Trias Indah Kustiningsih

NIM: 1408010111

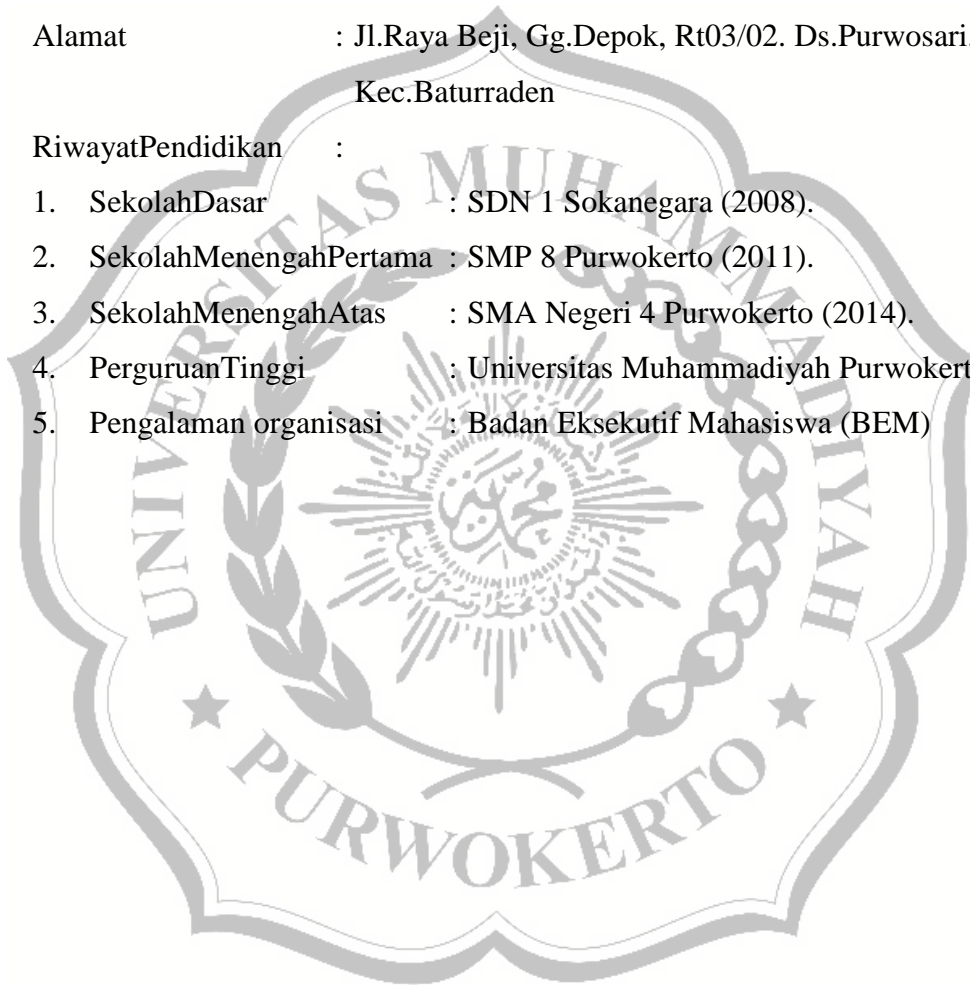


## RIWAYAT HIDUP

Nama : Trias Indah Kustiningsih  
NIM/ Angkatan : 1408010111/2014  
Tempat, Tanggalahir : Banyumas, 14 September 1995  
JenisKelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Alamat : Jl.Raya Beji, Gg.Depok, Rt03/02. Ds.Purwosari.  
Kec.Baturraden

RiwayatPendidikan :

1. SekolahDasar : SDN 1 Sokanegara (2008).
2. SekolahMenengahPertama : SMP 8 Purwokerto (2011).
3. SekolahMenengahAtas : SMA Negeri 4 Purwokerto (2014).
4. PerguruanTinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto (2014).
5. Pengalaman organisasi : Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM)



**PENETAPAN KADAR TOTAL FENOL DAN FLAVONOID SERTA  
UJI AKTIVITAS ANTI AGING EKSTRAK HERBA APUH-APUHAN  
(*Azolla microphylla* K) MELALUI PENGHAMBATAN  
ENZIM KOLAGENASE SECARA *IN VITRO***

Trias Indah Kustiningsih<sup>1</sup>, Nunuk Aries Nurulita<sup>2</sup>, Wahyu Utaminingrum<sup>3</sup>

**ABSTRAK**

Penuaan merupakan proses progresif dan multifaktor, perubahan fisiologis terjadi di berbagai jaringan pada gangguan fungsi biologis dan mekanisme perbaikan. Proses penuaan pada kulit melibatkan epidermis, dermis dan jaringan subkutan. Faktor yang berpengaruh untuk mempercepat terjadinya penuaan dini adalah sinar UV dari sinar matahari mengakibatkan perubahan pada jaringan ikat melalui pembentukan lipid peroksida, perubahan isi sel dan teraktivasinya enzim yang menyebabkan penuaan seperti enzim kolagenase dan elastase, serta adanya *reactive oxygen species* (ROS). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas *anti aging* dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *apuh-apuhan* (*Azolla microphylla* K.) dengan penetapan kadar fenolik total, flavonoid total dan uji *anti aging* menggunakan metode Inhibitor Kolagenase. Penetapan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteau* dengan pembanding asam galat dan pembanding kuersetin untuk penetapan kadar flavonoid total. Inhibitor enzim kolagenase dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak herba *apuh-apuhan* dalam mencegah terjadinya penuaan dini dengan menghambat enzim kolagenase pada kulit. Hasil penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak herba *apuh-apuhan* sebesar  $17,28 \pm 0,27$  % b/b untuk fenolik total dan  $0,997 \pm 0,49$  % b/b untuk flavonoid Total. Hasil uji *anti aging* terhadap enzim kolagenase ekstrak herba *apuh-apuhan* menunjukkan penghambatan sebesar 65,50 % dibandingkan dengan Inhibitor *Phenantroline*.

**Kata kunci:** *apuh-apuhan* (*Azolla microphylla* K.), Inhibitor kolagenase, *Anti aging*, *reactive oxygen species*, kolagen.

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOL AND FLAVONOID, ANTI AGING  
ACTIVITY TEST OF HERBA APUH-APUHAN (*Azolla microphylla* K.)  
EXTRACT BY IN VITRO TROUGH INHIBITOR COLLAGENASE**

Trias Indah Kustiningsih<sup>1</sup>, Nunuk Aries Nurulita<sup>2</sup>, Wahyu Utaminingrum<sup>3</sup>

**ABSTRACT**

Aging is a progressive and multifactorial process, physiological changes occur in various tissues in disorders of biological function and repair mechanisms. The aging process in the skin involves the epidermis, dermis and subcutaneous tissue. The influential factors for accelerating the occurrence of premature aging are UV rays from sunlight causing changes in the connective tissue through the formation of lipid peroxide, changes in cell contents and activation of enzymes that cause aging such as collagenase and elastase enzymes, and the presence of reactive oxygen species (ROS). This study was to examine the anti-aging activity of secondary metabolites contained in the perfume (*Azolla microphylla* K.) with the determination of total phenolic content, total flavonoids and anti aging test using the method of Collagenase Inhibitor. Determination of total phenolic levels using the Folin-Ciocalteu method with a comparison of gallic acid and quercetin comparators for the determination of total flavonoid levels. Collagenase enzyme inhibitors were carried out to determine the ability of herb extract to prevent premature aging by inhibiting the collagenase enzyme in the skin. The results of the determination of total phenolic content and total flavonoids for pumice herb extracts were  $17.28 \pm 0.27\%$  b / b for total phenolic and  $0.997 \pm 0.49\%$  b / b for total flavonoids. The anti aging test results on the collagenase enzymes of herbaceous herb extract showed 65.50% inhibition compared to Phenanthroline Inhibitors.

**Keywords:** *Azolla microphylla*, Collagenase inhibitors, anti aging, reactive oxygen species, collagen.

## DAFTAR ISI

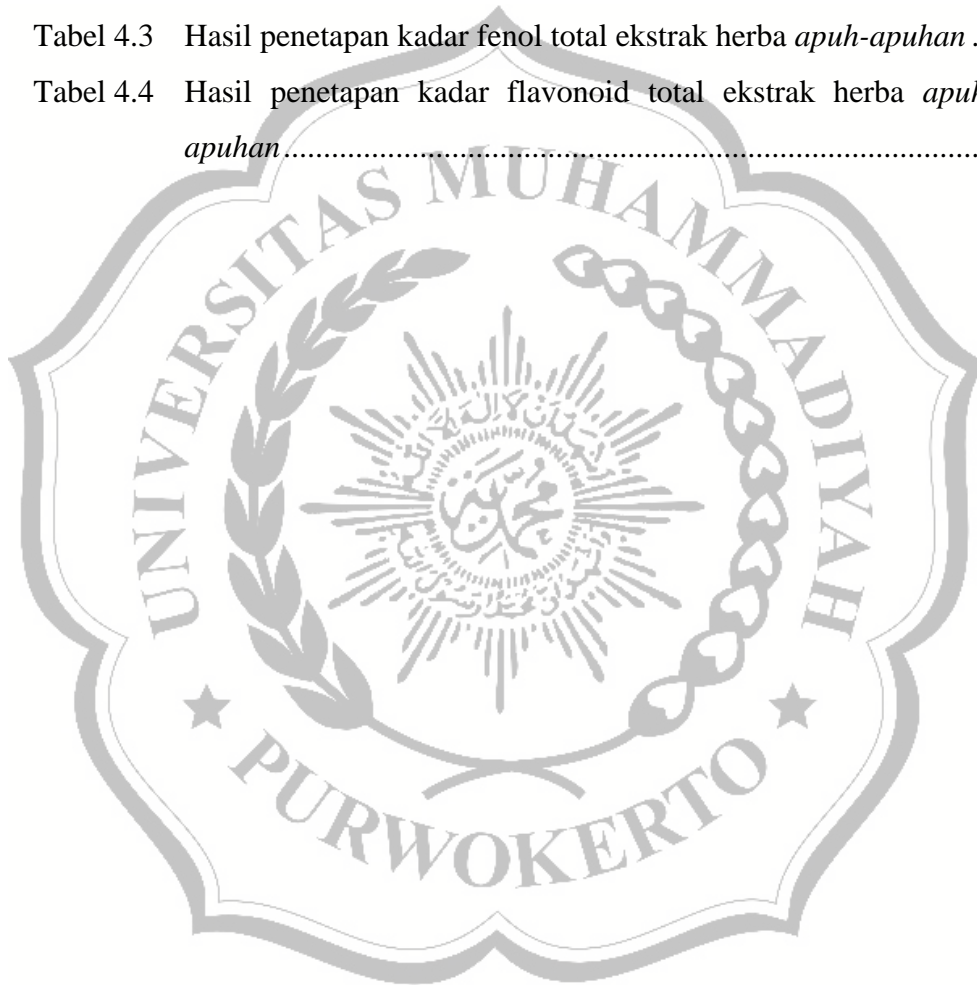
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	v
<b>MOTTO</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	ix
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI</b> .....	x
<b>ABSTRAK</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Hasil Penelitian Terdahulu .....	4
B. Landasan Teori .....	5
1. <i>Azolla microphylla</i> .....	5
2. Kandungan Kimia.....	7
3. Penuaan Kulit .....	8
4. Enzim pendegradasi Kolagen dan Elastin .....	11
5. Komponen fenolik.....	12
6. Mekanisme inhibitor kolagenase.....	13
C. Kerangka Konsep .....	15

D. Hipotesis .....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis dan Rancangan Penelitian.....	17
B. Variabel Penelitian .....	17
C. Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
D. Alat dan Bahan .....	17
1. Alat .....	17
2. Bahan.....	17
E. Tahap Penelitian .....	18
1. Determinasi tanaman .....	18
2. Penyiapan sampel .....	18
3. Ekstraksi .....	18
4. Skrining fitokimia .....	18
5. Penetapan kada total flavonoid .....	19
6. Penetapan kadar total fenol .....	20
7. Inhibitor Kolegenase .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Pengambilan dan Determinasi Tumbuhan .....	23
B. Pembuatan Simplisia .....	23
C. Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Apuh-apuhan .....	24
D. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis .....	25
E. Penentuan Kadar Total Fenol .....	28
F. Penentuan Kadar Total Flavonoid.....	30
G. Inhibitor Enzim Kolagenase .....	32
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan.....	35
B. Saran .....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>33</b>

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1	Hasil randemen ekstrak tanaman <i>apuh-apuhan</i> .....	25
Tabel 4.2	Hasil deteksi senyawa kimia secara keseluruhan .....	27
Tabel 4.3	Hasil penetapan kadar fenol total ekstrak herba <i>apuh-apuhan</i> .....	30
Tabel 4.4	Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak herba <i>apuh-apuhan</i> .....	31



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Tanaman <i>Azolla microphylla</i> .....	6
Gambar 2.2. Mekanisme sinar UV dalam menyebabkan penuaan dini dan mengaktivasi enzim kolagenase.....	11
Gambar 2.3. Struktur umum senyawa flavonoid .....	13
Gambar 4.1 Profil KLT.....	28
Gambar 4.2. Grafik antara hubungan konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) larutan pembanding asam galat vs absorbansi $y = 0,013x - 0,0256$ , $R^2 = 0,9822$ ).....	29
Gambar 4.3. Grafik antara hubungan konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) larutan pembanding kuersetin vs absorbansi $y = 0,0634x + 0,0702$ , $R^2 = 0,9915$ .....	31
Gambar 4.4 Grafik hubungan antara konsentrasi dan aktivitas penghambatan (%) enzim kolagenase.....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi <i>Azolla microphylla</i> .....	41
Lampiran 2. Proses ekstraksi herba apuh-apuhan ( <i>Azolla microphylla</i> K.) dengan menggunakan metode soxhletasi .....	43
Lampiran 3. Perhitungan persentase randemen bobot kering terhadap bobot basah dan bobot ekstrak terhadap bobot kering ekstraksi herba apuh-apuhan ( <i>Azolla microphylla</i> K.) .....	44
Lampiran 4. Perhitungan Pengenceran Pada Penetapan Fenolik Total Ekstrak ekstraksi herba apuh-apuhan ( <i>Azolla microphylla</i> K.) ...	45
Lampiran 5. Perhitungan Penetapan Kadar Fenolik Total.....	47
Lampiran 6. Gambar bahan dan hasil dari penetapan kadar fenolik total.....	49
Lampiran 7. Perhitungan Pengenceran Pada Penetapan Flavonoid Total Ekstrak ekstraksi herba apuh-apuhan ( <i>Azolla microphylla</i> K.) ...	57
Lampiran 8. Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid total Total.....	59
Lampiran 9. Gambar bahan dan hasil dari penetapan kadar flavonoid total....	62
Lampiran 10. Perhitungan % Inhibitor enzimkolagenase.....	66
Lampiran 11. Gambar tahapan dalam uji <i>anti aging</i> menggunakan metode inhibitor kolagenase.....	67