

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI n-BUTANOL  
LIMBAH DAUN KETAPANG (*Terminalia Catappa L*)  
MENGUNAKAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**

Disusun untuk Memenuhi Tugas dan Melengkapi Syarat  
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Strata S.1  
dalam Ilmu Kimia



Oleh :

**MAULIATUL FITRIYANI**

**1508036018**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO  
SEMARANG  
2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mauliatul Fitriyani

NIM : 1508036018

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-BUTANOL**

**LIMBAH DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa L*)**

**MENGGUNAKAN METODE DPPH**

secara keseluruhan adalah hasil penelitian atau karya sendiri,  
kecuali bagian tertentu yang dirujuk dari sumbernya.

Semarang, 17 Maret 2020

Pembuat Pernyataan,



**Mauliatul Fitriyani**

NIM. 1508036018



**KEMENTERIAN AGAMA RI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jalan. Prof. Dr. Hamka Km. 1 Kampus II Ngaliyan Semarang  
Telp. 024 7601295 Fax. 7615387

**PENGESAHAN**

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-BUTANOL  
LIMBAH DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa L*)  
MENGUNAKAN METODE DPPH**

Penulis : Mauliatul Fitriyani

NIM : 1508036018

Jurusan : Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosyah oleh Dewan Penguji  
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima  
sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam bidang  
Ilmu Kimia.

Semarang, 24 Maret 2020

**DEWAN PENGUJI**

Ketua Sidang

Sekretaris

**Ratih Rizqi Nirwana, S.Si, M.Pd** dan **Fitri Tri Suryandari, M.Si**  
NIP. 19810414 200504 2 003 NIP. 19740716 200912 2 001

Penguji I

Penguji II

**Mulyatun, M.Si** dan **Malikhatul Hidayah, M.Pd**  
NIP. 19830504 201106 2 004 NIP. 19830415 200912 2 006

Pembimbing I

Pembimbing II

**Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd** dan **Mutista Hafshah, M.Si**  
NIP. 19810414 200501 2 003 NIP. 19940102 201903 2 015

**NOTA DINAS**

Semarang, 17 Maret 2020

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Walisongo  
di Semarang

*Assalamu'alaikum Wr.Wb*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan,  
arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah  
Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*)  
Menggunakan Metode DPPH**

Nama : **Mauliatul Fitriyani**

Nim : 1508036018

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan  
kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan  
dalam Sidang Munaqasyah.

*Wassalamu'alaikum Wr.Wb*

Pembimbing I



**Ratih Rizqi/Nirwana, S.Si., M.Pd**

**NIP. 19810414 200501 2 003**

**NOTA DINAS**

Semarang, 17 Maret 2020

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Walisongo  
di Semarang

*Assalamu'alaikum Wr.Wb*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah  
Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*)  
Menggunakan Metode DPPH

Nama : Mauliatul Fitriyani

Nim : 1508036018

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqasyah.

*Wassalamu'alaikum Wr.Wb*

Pembimbing II



**Mutista Hafsah, M.Si.**

**NIP. 19940102 201903 2 015**

## ABSTRAK

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) adalah pohon *combretaceous* yang didistribusikan didaerah tropis dan subtropis. Daun, kulit, batang, dan buah-buahan telah digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai obat dermatitis dengan tujuan untuk antipiretik dan homeostatis. Daun yang jatuh dari tanaman ini telah digunakan untuk mencegah hepatoma dan untuk mengobati hepatitis di India, Filipina dan daerah lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang menggunakan metode DPPH. Ekstrak etanol limbah daun ketapang diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 96%. Sehingga di peroleh ekstrak etanol kental limbah daun ketapang, kemudian pemisahan secara partisi, sehingga diperoleh ekstrak fraksi n-hexsan, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol. Pengujian aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang dilakukan dengan metode DPPH dengan asam askorbat dan kuersetin sebagai kontrol positif. Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol limbah daun ketapang mengandung senyawa flavonoid, steroid, fenol dan tanin. Hasil uji aktivitas antioksidan tergolong antioksidan yang sangat kuat dengan menunjukkan nilai  $IC_{50}$  fraksi n-butanol limbah daun ketapang 0,4039 ppm, asam askorbat 0,1134 ppm, dan kuersetin 0,1202 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol limbah daun ketapang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Kata Kunci : *Terminaliacatappa L*, n-butanol, limbah daun ketapang, antioksidan.

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillah, puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul ***“Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang (Terminalia catappa L) menggunakan Metode DPPH”*** di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Sholawat serta salam senantiasa penulis haturkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang senantiasa menumbuhkan rasa semangat dengan penuh keyakinan dan berharap semoga mendapatkan syafaat di yaumul akhir nanti. Amin.

Skripsi ini merupakan syarat untuk menyelesaikan studi serta dalam rangka untuk memperoleh gelar Sarjana Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. terselesaikan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak, sehingga pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat. Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah

memberikan kontribusinya berupa ilmu pengetahuan, bantuan moril maupun material baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan dan penyelesaian dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai. Penulis mengucapkan terimakasih terutama kepada yang saya hormati:

1. Dr. H. Ismail, M. Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
2. Hj.Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Ratih Rizqi Nirwana, M. Pd., dan Mutista Hafsah, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis.
4. Anita Karunia Z, S.Si., Ahmad Muchis, S.Pd dan segenap Asisten Laboratorium Kimia (Khususnya Asisten Kimia 2015) yang telah membantu dalam proses penelitian dan memberi semangat.
5. Segenap Bapak/Ibu dosen dan staff Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang telah memberikan



ilmu-ilmu pengetahuan dan membantu selama dalam perkuliahan.

6. Teristimewa Almarhumah Ibunda Siti Alimah atas jasa-jasanya, kesabaran, doa dan tidak pernah lelah dalam mendidik dan memberi nasehat serta cinta yang tulus dan ikhlas sejak kecil.
7. Teristimewa Ayahanda Rahman yang senantiasa selalu memberi dukungan, motivasi, semangat, kesabaran dalam mendidik serta nasehat kasih sayang yang tulus dan ikhlas dengan pengorbanan dan perjuangan yang luar biasa.
8. Kakakku tercinta Maudhotul Khasanah, dan Adikku tersayang Gayuh Muhammad Tanwirul Qulub yang selalu memberikan dukungan dan inspirasi untuk membantu penyelesaian skripsi ini.
9. Sahabat-sahabat seperjuangan Kimia 2015, KKN MIT VII Posko 40 Plalangan dan sahabat-sahabat Ponpes Girikusumo yang senantiasa telah memberikan semangat, memotivasi satu sama lain, serta memberikan warna dalam hidupku sehari-hari selama belajar di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas sumbangan baik moral maupun spritual demi terwujudnya penulisan skripsi, semoga kebaikan kalian dibalas oleh Allah SWT dengan kebaikan yang berlipat ganda.

Penulis sangat menyadari bahwa laporan ini tidak seluruhnya sempurna, untuk itu dengan kerendahan hati penulis meminta maaf dan mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan pada penulisan berikutnya. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat baik untuk penulis maupun semua pihak yang membaca.

Semarang, 17 Maret 2020

Penulis

Mauliatul Fitriyani

1508036018

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>NOTA DINAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	10
C. Tujuan Penelitian.....	10
D. Manfaat Penelitian .....	10
<b>BAB II. LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA</b>	
A. Deskripsi Teori	
1. Ketapang.....	12
2. Morfologi Ketapang.....	12
3. Kandungan Senyawa Ketapang.....	16

4. Khasiat Tanaman ketapang .....	17
B. Ekstraksi .....	17
C. Radikal Bebas.....	19
D. Antioksidan.....	20
E. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH .....	24
F. Spektrofotometri UV-Vis .....	26
G. Senyawa Metabolit Sekunder .....	29
1. Senyawa Alkaloid .....	30
2. Senyawa Flavonoid.....	31
3. Senyawa Tanin .....	32
4. Senyawa Triterpenoid dan Steroid....	33
5. Senyawa Saponin.....	33
H. Kajian Pustaka .....	34

### **BAB III. METODOLOGI PENELITIAN**

A. Jenis Penelitian .....	40
B. Tempat Penelitian .....	39
C. Alat dan Bahan.....	39
D. Prosedur Kerja.....	39
E. Teknik Analisis Data .....	53

## **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Deskripsi Data**

1. Penyiapan Simplisia ..... 53
2. Ekstraksi ..... 53
3. Penapisan Fitokimia..... 53
4. Uji Antioksidan..... 54

### **B. Analisis Data ..... 58**

## **BAB V. PENUTUP**

### **A. Kesimpulan ..... 79**

### **B. Saran..... 79**

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur DPPH.....	24
Gambar 2.2 Struktur Penangkapan Radikal Bebas.....	25
Gambar 2.3 Pembacaan Spektrofotometer.....	28
Gambar 2.4 Struktur Senyawa alkaloid.....	30
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Flabonoid .....	31
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Squalena .....	32
Gambar 4.1 reaksi Flavonoid.....	65
Gambar 4.2.Reaksi Senyawa Steroid .....	66
Gambar 4.3.Reaksi Senyawa Fenol.....	67
Gambar 4.4 Reaksi Uji Senyawa Tanin .....	68
Gambar 4.5 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang.....	70
Gambar 4.6 Struktur Penangkapan Radikal Bebas.....	71
Gambar 4.7 Kurva Persamaan Regresi linear Aktivitas Antioksidan Terhadap Asam Askorbat.....	73
Gambar 4.8 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Terhadap Kuersetin.....	74

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Kandungan Senyawa Aktif Limbah Daun Ketapang.....	55
Tabel 4.2 Persentase Penghambat DPPH Oleh Fraksi n- Butanol Limbah Daun Ketapang.....	56
Tabel 4.3 Persentase Penghambat DPPH Oleh Asam Askorbat .....	57
Tabel 4.4 Persentase Penghambat DPPH Oleh Kuersetin...	58

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian

Lampiran 2. Perhitungan % Rendemen

Lampiran 3. Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Lampiran 4. Persentase Penghambat DPPH Oleh Fraksi n-  
Butanol Limbah daun Ketapang

Lampiran 5. Persentase Penghambat Asam askorbat

Lampiran 6. Persentase Penghambat Kuersetin

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



## BAB I PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Bahan alam seperti tumbuhan, hewan, atau mikroba yang sudah lama dimanfaatkan oleh manusia dalam berbagai aspek kehidupan. Awalnya manusia memanfaatkan tanaman sebagai sumber bahan pangan karena kandungan nutrisinya. Selain itu, manusia juga memanfaatkan tanaman dalam berbagai bidang kesehatan salah satunya untuk pengobatan (Kumoro, 2015). Beberapa bagian dari tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat meliputi daun, bunga, akar, dan ekstrak (Raharjo, 2013). Seperti dalam firman Allah Surat Asy-Syu'ara ayat 7.

-أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ -٧

Artinya :”Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”. (QS. Asy-Syu'ara : 7).

Berdasarkan ayat tersebut dijelaskan bahwa tumbuhan berfungsi karena mengandung

senyawa bioaktif yang mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit. Dewasa ini, masyarakat kurang menyadari akan keberadaan dan pengaruh radikal bebas terhadap organ tubuh terutama terhadap munculnya berbagai macam penyakit kronik dan akut. Banyaknya polusi, radiasi ultraviolet, stress, rokok, diet tidak sehat, makanan berlemak tinggi, bahan makanan tambahan, dan faktor-faktor lainnya tanpa disadari masuk kedalam tubuh dan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas. Di daerah yang banyak mengkonsumsi protein, lemak, gula dan garam ternyata lebih banyak ditemukan sebagai penderita penyakit-penyakit degeneratif dibandingkan masyarakat diwilayah yang banyak mengkonsumsi karbohidrat, serat dan vitamin. Macam-macam penyakit degeneratif yang umum diderita oleh masyarakat maju adalah hipertensi, diabetes militus, penyakit jantung dan kanker. Berbagai macam degenartif tersebut erat kaitannya dengan pola makan, proses penuaan, kanker, kardiovaskuler, stroke, DM dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun

tubuh dapat disebabkan oleh stres oksidatif (Ramadhan, 2015). Supaya dapat bertahan dari serangan radikal bebas, manusia dan organisme lainnya membangun sistem yang disebut antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Penambahan antioksidan kedalam formulasi makanan juga sangat efektif mengurangi oksidasi lemak yang menyebabkan ketengikan, toksisitas, dan detrusksi biomolekul yang ada dalam makanan (Ramadhan, 2015). Berdasarkan sumber antioksidan dibedakan menjadi dua kategori yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Sumber antioksidan alami berasal dari makanan yang dapat diisolasi dan ditambahkan kemakanan, sedangkan antioksidan sintesis merupakan hasil sintesis suatu senyawa kimia dengan senyawa lain yang berfungsi untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi. Diantara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diperbolehkan untuk makanan yaitu *Butil Hidroksi*

*Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluen* (BHT), *propil Galat*, *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ), *dl-tocopherol* dan *Ascorbil Palmitat* (Ramadhan, 2015). Antioksidan sintesis umumnya digunakan sebagai pengawet daripada penangkal radikal bebas seperti senyawa antioksidan yang dihasilkan melalui proses alami baik itu dihasilkan oleh tubuh maupun ekstrak dari bahan alam.

Gerakan kembali ke alam “*back to nature*” semakin banyak dilakukan oleh penduduk dari negara-negara maju maupun negara berkembang termasuk Indonesia. Indonesia adalah negara yang sangat kaya akan sumber daya alam terutama keanekaragaman hayati. Besarnya potensi kekayaan sumber daya alam Indonesia sebagai sumber bahan baku simplisia yang dapat diformulasikan menjadi obat tradisional. Salah satu tumbuhan alam yang berkhasiat sebagai bahan obat adalah tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*).

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) adalah pohon *Combretaceous* yang didistribusikan didaerah tropis dan subtropis. Daun, kulit, batang,

dan buah-buahan telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan dermatitis, dan tujuan antipiretik dan homeostatis. Daun yang jatuh dari tanaman ini telah digunakan untuk mencegah hepatoma dan untuk mengobati hepatitis di India, Filipina dan daerah lainnya. Tanaman ketapang merupakan tumbuhan dari familia *combretaceous* yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi (Kinoshita dkk, 2007). Efek dari ekstrak air tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) dan tanin dalam tanaman ini telah di teliti. Menurut Lin dkk (1997) bahwa kenaikan luar biasa dalam aktivitas serum Alanine Aminotransferase (ATL) dan Aspartate Aminotransferase (AST) yang diinduksi oleh CCl4 dapat dihambat oleh pra-perawatan dengan ekstrak air dari daun ketapang. Tanaman ketapang (*Terminalia catappa L.*) juga mengerahkan aktivitas antioksidan dan efek pengambilan radikal superoksidasi. *Punicalagin* dan *Punicalin*, dua tanin yang paling banyak menunjukkan aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif yang kuat (Lin dkk, 1998). Berdasarkan hasil skrining fitokimia

didalam ekstrak etanol daun ketapang terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin dengan total kandungan senyawa flavonoid (51,67 mg/g ekstrak) dan fenol (354,02 mg/g ekstrak) (Pandya dkk, 2013). Berdasarkan penelitian sahala, dkk (2012) bahwa senyawa fenol yang terkandung dalam daun *Terminalia Catappa L* memiliki aktivitas antioksidan  $5,429 \pm 0,110$  mg terhadap DPPH radikal bebas yang signifikan dengan nilai  $IC_{50}$   $34,071 \pm 0,424$   $\mu$ g/mL. Selain itu, menurut penelitian Tasneem (2019) bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  berkisaran antara 3,54 - 5,52  $\mu$ g/mL yang sebanding dengan standar. Menurut penelitian Kumar (2017), menunjukkan bahwa aktivitas radikal DPPH ekstrak etanol dan fraksinya dari kulit kayu dan daun ditemukan paling tinggi pada fraksi n-Butanol dari ekstrak kulit kayu dan daun ( $IC_{50}$ -1,6 mg/ml dan 1,9 mg/ml ) dan ekstrak etanol kasar dari kulit kayu ( $IC_{50}$ - 2.2 mg/ml) dan daun ( $IC_{50}$ -2,3 mg/ml). Kemudian untuk fraksi kloroform aktivitas radikal

DPPH yang paling sedikit diamati dari kulit kayu dan daun ( $IC_{50}$ -10,5 dan 7,0 mg/ml). Dan dibandingkan dengan asam askorbat ( $IC_{50}$ - 2.0 mg/ml) dan ekstrak etanol kasar dari kulit kayu ( $IC_{50}$ - 2.2 mg/ml) dan daun ( $IC_{50}$ - 2.3 mg/ml). Menurut penelitian Abdulkadir (2013), menunjukkan bahwa ekstrak daun *terminalia catappa L* memiliki kadar total fenolik, kadar total flavonoid tertinggi, aktivitas penangkal radikal DPPH dan mengurangi potensi daya dengan  $285,77 \pm 4,83$  (mg GAE/ g),  $59,95 \pm 3,41$  (mg QAE/g), 43,34  $IC_{50}$  ( $\mu$ g/ml). Menurut penelitian Chandel dkk, (2019), menunjukkan bahwa aktivitas penangkal radikal DPPH dari ekstrak etanol dan fraksi dari *terminalia bellerica* ekstrak daun dan buah ditemukan paling tinggi adalah fraksi etil asetat dari kedua buah dan ekstrak daun dengan  $IC_{50}$  masing-masing (6,03  $\mu$ g/ml) dan (6,44  $\mu$ g/ml), dibandingkan dengan asam askorbat (6,3  $\mu$ g/ml). Urutan penangkal radikal DPPH untuk ekstrak dan buah adalah fraksi etil asetat asetat (6,03  $\mu$ g/ml), ekstrak etanol (6,33  $\mu$ g/ml), fraksi n-butanol (7,57  $\mu$ g/ml), fraksi kloroform (15,39  $\mu$ g/ml), fraksi air

(97,57 µg/ml). Sedangkan dalam ekstrak daun urutannya adalah fraksi etil asetat (6,44 µg/ml), ekstrak etanol mentah (7,16 µg/ml), fraksi n-butanol (7,58 µg/ml), fraksi kloroform (20,41 µg/ml), fraksi air (41,18 µg/ml). Salah satu tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah limbah daun ketapang.

Pada penelitian ini menggunakan sampel tanaman ketapang yang diperoleh dari lingkungan Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Hal ini dilakukan agar senyawa yang didapat bisa terekstrak. Penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Metode maserasi dipilih karena dalam proses pengerjaan dan peralatannya sangat mudah dan cukup sederhana. Prinsip dari teknik maserasi adalah terjadinya pemecahan membran dan dinding sel akibat adanya perbedaan tekanan didalam maupun diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada didalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Veronita dkk, 2017). Dalam proses maserasi ini , pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol karena pelarut ini sudah banyak digunakan dan sangat



terbukti untuk senyawa organik bahan alam yang dapat melarutkan seluruh metabolit sekunder dengan sempurna. Proses fraksinasi ini bersifat polar, pelarut yang dipilih adalah pelarut n-butanol karena tingkat kepolarannya lebih rendah dari pelarut lain sehingga lebih mudah dipisahkan dari fraksi air. Dari proses fraksinasi ini dipilih karena sesuai dengan prinsip kelarutan *like dissolve like* karena diketahui bahwa senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut nonpolar, sedangkan pada senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Proses pengujian antioksidan dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena keuntungan dari metode ini sudah terbukti lebih efektif, efisien, dan untuk ujiannya sangat mudah, cepat dan sederhana untuk skrining aktivitas penangkapan radikal dari beberapa senyawa. Metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal ada tiga metode yaitu DPPH, FRAP, FIC, dalam metode DPPH yang dipilih karena ditemukan lebih efektif dan efisien diantara tiga metode uji yang digunakan,

sedangkan metode FIC paling tidak efektif dan efisien karena sensitivitasnya sangat rendah daya kelatnya sangat kecil (Maesaroh dkk, 2018).

Berdasarkan pemaparan diatas, dengan didukungnya kandungan metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas antioksidan serta penelitian tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak maupun fraksi dari limbah daun ketapang belum ada yang meneliti, sehingga penulis melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*)” Menggunakan Metode DPPH.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

1. Apa saja senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang ?
2. Apakah fraksi n-butanol limbah daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang.

2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang terhadap DPPH.

#### **D. MANFAAT PENELITIAN**

1. Memberikan informasi manfaat tentang aktivitas antioksidan limbah daun ketapang.
2. Mendorong dan mendukung untuk peningkatan kesehatan dan upaya pengembangan antioksidan baru dari bahan alam dalam bidang industri pangan maupun farmasi (obat-obatan).

## BAB II

### LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

#### A. Deskripsi Teori Tumbuhan Ketapang

##### 1. Ketapang (*Terminalia Catappa L*)

*Combretaceae* merupakan salah satu keluarga tanaman berbunga terbesar termasuk pohon, semak-semak, dan lianas yang terdiri dari sekitar 20 genus dan 600 spesies. *Terminalia* merupakan genus pohon besar milik *Combretaceae* yang terdiri sekitar 200 spesies yang tersebar didaerah tropis di dunia. Genus ini mendapatkan namanya dari terminus kata latin yang mengacu pada fakta bahwa daun muncul di ujung-ujung tunas. Pohon-pohon dari genus ini dikenal sebagai sumber metabolit sekunder yang baik seperti triterpen siklis dan turunannya, flavonoid, tanin, dan aromatik lainnya. Almond tropis secara botani disamakan sebagai *Terminalia Catappa L* (Ventakshmi dkk, 2016). Tanaman ketapang ini sangat banyak di temukan didaerah kampus Universitas Islam Negeri

Walisongo Semarang, Tanaman ketapang ini digunakan sebagai tanaman penghias kampus dan juga sebagai peneduh didaerah kampus. Klasifikasi tanaman ketapang adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Family	: Combretaceae
Genus	: Terminalia
Species	: <i>Terminalia Catappa L</i>

## 2. Morfologi Ketapang

### a. Bunga-bunga

Tanaman Ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki ukuran yang kecil, bunga yang berwarna kuning dan terkumpul dalam bulir yang berada di dekat ujung ranting dengan panjangnya sekitar 8-25 cm. Bunga tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) tidak memiliki mahkota, memiliki kelopak berjumlah 5 dengan bentuk seperti piring atau lonceng

ukuran 4-8 mm dan berwarna putih atau krem. Benang sari tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) berada dalam 2 lingkaran yang tersusun masing-masing 5 (Tjitrosoepomo, 2002).

b. Daun

Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki daun yang tidak lengkap karena hanya memiliki tangkai daun dan helai daun. Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki ujung tepi daun yang rata, ujung daun dan pangkal daun tanaman ini meruncing, daging daun tipis dan lunak serta pertulangan daun penyirip yaitu memiliki satu ibu tulang daun dan beberapa tulang cabang yang terarah dari pusat menuju tepi daun (Tjitrosoepomo, 2002).

c. Buah

Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki buah berwarna hijau tetapi ketika sudah tua warna merubah menjadi merah kecoklatan dengan ukuran

buahnya kira-kira 4-5,5 cm. Kulit terluar dari biji tanaman ini licin dan ditutupi oleh serat yang memili biji tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) (Tjitrosoepomo, 2002).

d. Biji

Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki 2 bagian biji yaitu lapisan kulit dalam dan lapisan kulit luar. Lapisan kulit luar pada biji ketapang (*Terminalia Catappa L*) keras seperti kayu, kemudian lapisan tersebut merupakan pelindung utama bagi bagian biji yang ada didalamnya (Tjitrosoepomo, 2002).

e. Batang

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) memiliki batang berkayu yang keras dan kuat. Batang tersebut berbentuk bulat, serta sifat permukaan batang beralur yaitu membujur batang terdapat ular-ular yang jelas. Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) memiliki cabang yang mendatar yaitu antara cabang dengan

batang pokok membentuk sudut kurang lebih 90°. Sehingga percabangan pada tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) termasuk percabangan simpodial karena batang pokok sukar ditentukan (Tjitrosoepomo, 2002).

f. Akar

Tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) adalah tumbuhan dikotil karena memiliki akar tunggang. Akar pada tanaman ketapang (*Terminalia Catappa L*) termasuk akar tunggang yang bercabang, karena akar tunggang yang berbentuk kerucut panjang sehingga tumbuh lurus kebawah, bercabang banyak sehingga memberi kekuatan pada batang yang dapat membuat daya serap terhadap air dan zat makanan memnjadi lebih besar (Tjitrosoepomo, 2002).

3. Kandungan senyawa tanaman ketapang

Kandungan didalam tanaman ketapang diketahui memiliki kandungan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah



senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, steroid, dan triterpenoid (Ettienne, 2017).

#### 4. Khasiat tanaman ketapang

Tumbuhan ketapangan sudah banyak dikenal oleh kalangan masyarakat, tumbuhan ini digunakan sebagai obat tradisional yang berkhasiat dan mudah untuk didapatkan. Salah satu bagian dari tumbuhan ketapang ini yang banyak digunakan oleh kalangan masyarakat adalah daban daunnya. Manfaat dari daun ketapang salah satunya adalah untuk obat sakit kepala, obat kudis, peluruh keringat, sedangkan dari akar tanaman ketapang sebagai obat untuk pendarahan, radang selaput lendir usus, dan disentri. Daun ketapang yang sudah gugur digunakan sebagai obat cacing (Tasneem, 2019)

### **B. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah kegiatan pengambilan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan. Menurut

Mukhriani (2014) ada beberapa perbedaan hal yang diperhatikan untuk proses ekstraksi dari bahan-bahan alam adalah sebagai berikut :

- a. Kelompok bagian dari tumbuhan seperti batang, daun dan bunga (penggilingan dan pengeringan pada bagian tumbuhan)
- b. Pemilihan pelarut ada 3 macam sebagai berikut:
  1. Pelarut nonpolar (n-hexsan, kloroform, petroleum eter dan sebagainya).
  2. Pelarut semipolar (etil asetat, diklorometan dan sebagainya).
  3. Pelarut polar (etanol, metanol, n-butanol dan sebagainya).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman (simplicia) dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup pada suhu kamar. Kelebihan metode ini adalah mudah untuk dilakukan, tetapi kelemahannya adalah membutuhkan waktu yang lama dan banyak menggunakan pelarut. Disisi lain metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa volatil (Mukhriani, 2014).

### C. Radikal bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang kehilangansatu elektrin atau lebih sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari sel atau molekul lain (Ramadhan, 2015). Radikal bebas sudah banyak jenisnya tetapi keberadaanya yang paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan dari oksigen atau reactive oxygen species (ROS) dan reactivenitrogen species (RNS) (Parwata, 2016).

Radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme tubuh pada saat sedang bernafas (hasil dari proses oksidasi atau pembakaran) terjadi pada saat infeksi. Pada saat radikal bebas terjadi infeksi diperlukan untuk membunuh mikroorganisme penyebab infeksi, akan tetapi paparan dari radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan dapat menyebabkan kematian sel sehingga menyebabkan timbulnya penyakit (Ramadhan, 2015).

Reactive oxygen terdiri dari superoksida ( $\cdot\text{O}_2$ ), hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), peroksil ( $\text{ROO}\cdot$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), singlet oksigen ( $^1\text{O}_2$ ), oksida nitrit ( $\text{NO}\cdot$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}\cdot$ ) dan asam hipoklorit ( $\text{HOCl}$ ). Radikal bebas yang paling banyak didalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ). Radikal hidrosil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan pada sel (Parwata, 2016).

#### **D. Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam efek negatif oksidan dalam tubuh, antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga dapat menghambat aktifitas suatu senyawa tersebut. Manfaat dari antioksidan adalah mencegah kerusakan oksidatif yang disebabkan radikal bebas dan ROS sehingga mencegah terjadinya berbagai macam penyakit

seperti penyakit kardiovaskuler, jantung koroner, kanker serta penuaan dini (Ramadhan, 2015)

Berdasarkan sumber, jenis, dan mekanisme kerjanya, antioksidan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok yaitu :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang karena dampak dari negatif. Antioksidan primer disebut juga dengan antioksidan endogenus karena hasil dari proses sidalam tubuh (endogen). Yang termasuk didalamnya adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutation peroksidase (GSH-PX), serta glutation reduktase (GSHR). Sebagai antioksidan, enzim-enzim ini berkerja menghambat pembentukan radikal bebas dengan mengubahnya menjadi produk lain stabil.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas serta dapat mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder diantaranya adalah vitamin E, vitamin C, dan B-karoten.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier dapat memperbaiki kerusakan pada sel-sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh enzim yang dapat memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfuksidan reduktase. Pada penderita kanker enzim ini sangat bermanfaat untuk perbaikan pada DNA.

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme kerja serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Seringkali, kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap

oksidasi dibanding dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak. Dalam proses melumpuhkan radikal bebas, vitamin E menjadi pelopor diikuti oleh vitamin C dan dengan bantuan senyawa glutathion, betakaroten, seng, mangan, dan selenium akan memudahkan pelumpuhan radikal bebas (Ramadhan, 2015).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami adalah antioksidan yang merupakan hasil dari ekstraksi bahan alami. Antioksidan alami dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami

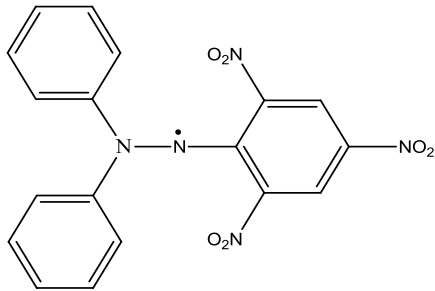
dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan.

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu butilhidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, terbutil hidoksi quinon (TBHQ), dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Ramadhan, 2015).

#### **E. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH**

Aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak dapat di uji dengan mengukur daya tangkap terhadap radikal bebas menggunakan radikal sintetik *1,1,2,2-diphenyl picrylhydrazyl* (DPPH) (Santoso, 2016), seperti gambar 2.1 di bawah ini :



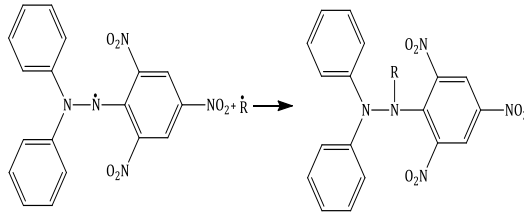


Gambar 2.1. Struktur DPPH.

Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan baik dalam pelarut nonpolar maupun pelarut polar. Metode DPPH dipilih karena proses ujinya sederhana, murah, mudah dan terbukti lebih efektif dan efisien, sehingga waktu dan sampel yang dibutuhkan singkat dan sedikit. Senyawa antioksidan yang bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donor atom. Radikal DPPH menimbulkan warna ungu karena memberikan absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm (Prakash, 2001).

Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan. Sehingga terjadi perubahan warna ungu menjadi kuning.

Mekanisme penangkapan radikal menunjukkan reaksi dibawah ini :



Gambar 2.2. Metode penangkapan radikal bebas (Shalaby & Shanab, 2013)

Metode DPPH ini menggunakan parameter  $IC_{50}$  yang menunjukkan bahwa konsentrasi pada suatu sampel uji mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% diperoleh dari persamaan regresi. Nilai parameter  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam senyawa uji. Nilai  $IC_{50}$  yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada sampel yang diuji semakin besar atau kuat sebagai penangkal radikal bebas (Rohman dkk, 2005).

## F. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum cahaya dari matahari dapat dilihat secara alamiah yaitu dengan bentuk pelangi. Spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa-senyawa

organik dihasilkan oleh transisi antara tingkat-tingkat energi elektron dari orbital energi rendah dalam keadaan dasar dinaikkan ke orbital dengan senengi yang lebih tinggi (Williams dan Fleming, 2014).

Suatu spektrofotometer UV-Vis dapat mengukur dan merekam spectrum suatu senyawa dalam tumbuhan yang berbentuk larutan. Spektrum akan tampak terentang pada panjang gelombang dari 400 nm yang menghasilkan warna ungu sampai 750 nm yang menghasilkan warna merah, sedangkan spektrum pada ultraviolet terentang dari panjang gelombang 100 nm samapi 400 nm (Fessenden, 1994).

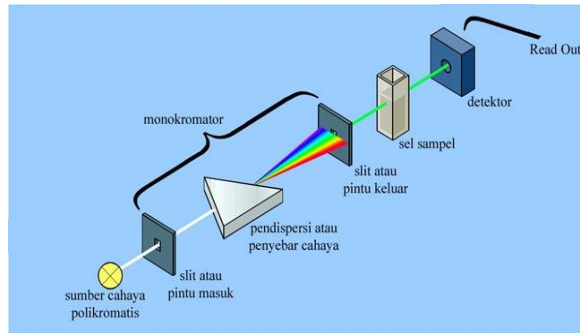
Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis merupakan aplikasi dari hukum Lamber-Beer. Hukum ini menyatakan bahwa identitas yang diteruskan oleh penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi kuvet (Rohman, 2007). Kesalahan-kesalahan secara sistematik dalam penggunaan spektrofotometer seringkali terjadi. Adapun penyebab-penyebab kesalahan

dalam penggunaan spektrofotometer sebagai berikut:

1. Serapan oleh larutan
2. Serapan oleh kuvet
3. Kesalahan pada fotometrik normal pada pengukuran absorbansi yang sangat rendah atau sangat tinggi. Hal tersebut dapat diatasi dengan pengaturan konsentrasi sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan.

Kesalahandalampenggunaan spektrofotometer UV-Vis dapat diatasi dengan melakukan proses kalibrasi. Kalibrasi dilakukan menggunakan blanko, yaitu dengan menyetting nilai absorbansi=0 dan nilai transmitasi=100% (Tahir, 2008)

Secara sederhana instrumen spektrofotometri yang disebut dengan spektrofotometer terdiri dari berbagai macam. Seperti gambar 2.1 dibawah ini :



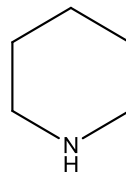
Gambar 2.3. Pembacaan Spektrofometer

### G. Senyawa metabolit sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang memiliki kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama (Lenny, 2006). Penggolongan metabolit sekunder selain didasarkan pada struktur senyawanya, juga didasarkan pada jalur biosintesisnya itu terbentuk. Beberapa golongan metabolit sekunder utama yang dapat diidentifikasi adalah senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, fenol, dan tannin (Raharjo, 2013).

## 1. Senyawa alkaloid

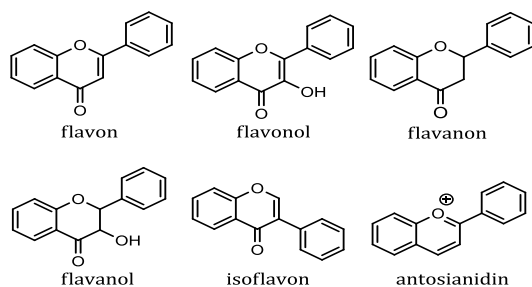
Alkaloid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat alkali. Sifat inilah yang membuat penamaan golongan senyawa-senyawa ini sebagai alkaloid. Alkaloid diperkirakan dapat bersifat melindungi tanaman dari serangan serangga, mikroorganisme, maupun virus (Raharjo, 2013). Semua senyawa alkaloid paling sedikit mengandung satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa, dan sebagian besar atom nitrogen merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Senyawa alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan-tumbuhan salah satunya dibagian daun taumbuhan (Kumoro, 2015). Seperti gambar 2.4 dibawah ini :



Gambar 2.4. Struktur Alkaloid

## 2. Senyawa flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kelompok fenol terbesar yang dapat ditemukan di alam. Senyawa flavonoid menghasilkan zat warna merah, ungu, kuning yang terdapat didalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa flavon, flavonol, dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di daerah alam sehingga sering disebut dengan senyawa flavonoid. Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon terdiri dari dua cincin benzen ( $C_6$ ) yang terikat pada suatu rantai propana ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $c_6-c_3-c_6$  (Lenny, 2006), seperti gambar 2.5 dibawah ini:



Gambar 2.5. Struktur umum kelompok utama senyawa Flavonoid (Raharjo, 2013)

### 3. Senyawa tanin

Senyawa tannin termasuk golongan senyawa aktif pada tumbuhan pada golongan flavonoid. Secara kimia tannin dibagi menjadi dua golongan yaitu *catechic tannin* (terkondensasi) dan *gallic tannin* (terhidrolisis). Uji fitokimia tannin dilakukan dengan menambahkan pada larutan  $\text{FeCl}_3$  didalam ekstrak/sampel. Jika ekstrak/sampel menimbulkan hasil positif maka akan terbentuk warna biru kehitaman pada senyawa tannin (Robinson, 1995).

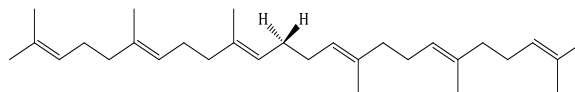
### 4. Senyawa steroid dan triterpenoid

Senyawa steroid merupakan senyawa yang memiliki kerangka dasar siklopentana fenantren. Pada umumnya gugus metil berada pada atom  $\text{C}_{17}$ . Senyawa sterol merupakan senyawa steroid yang memiliki gugus hidriksi pada atom  $\text{C}_3$ , atom karbon tambahan berada pada rantai samping. Pada reaksi Liberman-Burchard uji sampel yang banyak digunakan adalah (anhidra asetat), yang memberikan



warna hijau-biru pada senyawa triterpen dan steroid (Harbone, 1987).

Senyawa triterpenoid merupakan kerangka karbonnya yang berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu senyawa squalena. Senyawa ini memiliki setruktur siklik yang berupa alkohol, aldehida, atau asam askorbat. Umumnya pereaksi Liberman-Burchard digunakan untuk mendeteksi triterpenoid yang menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Seperti gambar 2.6 dibawah ini :



Gambar 2.6. Struktur Squalena (Raharjo, 2013)

#### 5. Senyawa saponin

Senyawa saponin merupakan senyawa glikosida, steroid da triterpenoid yangtelah terdeteksi lebih dari 90 genus pada tumbuhan termasuk dalam golongan terpenoid (Robinson, 1995). Glikosida merupakan suatu

kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Adanya saponin pada tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang banyak dengan stabil sewaktu mengekstrak tumbuhan dalam larutan air (Harbone, 1987).

## H. Kajian Pustaka

Tumbuhan ketapang merupakan salah satu tanaman oabat yang sudah dikenal oleh kalangan masyarakat. Penelitian mengenai kandungan senyawa dan manfaat pada tanaman ketapang sudah banyak dilakukan terutama dibagian daun ketapang (*Terminalia catappa L*).Kumar dkk (2017) melaporkan bahwa ekstrak ekstrak etanol dan fraksi pelarut yang berbeda (kloroform, etil asetat, n-butanol dan fraksi berair) yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,8 µg/ml (ekstrak etanol), 17,5 µg/ml (fraksi kloroform), 5,7 µg/ml (fraksi etil asetat), 4,8 µg/ml (fraksi n-butanol), dan 11,8 µg/ml (fraksi berair). Adapun standar yang digunakan yaitu asam askorbat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 5,1 µg/ml. Menurut Saroja dkk, (2011) potensi

antioksidan dari fraksi fenolik *Terminalia catappa L* pada tikus albino Swiss yang diperbanyak ELA. Tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) memiliki kadar antioksidan enzim seperti katalase, superoksida dismutase dan glutathione peroksidase dan antioksidan non enzimatis seperti vitamin A, vitamin E, dan glutathione yang berkurang meningkat pada pemberian dengan fraksi fenolik *Terminalia catappa L* pada tikus yang diinduksi ELA. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi fenolik *Terminalia catappa L* memiliki aktivitas antioksidan.

Mukarlina dkk, (2017) melaporkan bahwa tanaman ketapang (*Terminalia catappa L*) salah satu tanaman yang memiliki data spektral GC-MS bahwa senyawa bioaktif yang memiliki potensi bioherbisida dari ekstrak metanol daun ketapang (*Terminalia catappa L*) adalah neophytadiena 3, 7, 11, 15-tetramethyl-2 - 2 hexadecen-1 ol, 2, 6, 10, 14, 18, 22 tetracosahexaena dan lupeol. ekstrak etanol daun ketapang menunjukkan kadar fenolik total, kadar flavonoid total tertinggi, aktivitas pembersihan radikal DPPH dan potensi kekuatan

mereduksi masing-masing  $285,77 \pm 4,83$  (mg GAE/g),  $59,95 \pm 3,41$  (mg QAE/g),  $43,34$  IC<sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) dan  $2512,89 \pm 13,47$  (mM Fe (II)/g) (Abdulkadir, 2013).

Ariyanti dkk, (2013) melaporkan bahwa identifikasi senyawa flavonoid dari daun ketapang kencana (*Terminalia muelleri Benth*) bahwa hasil isolat flavonoid dari ekstrak etil asetat daun *Terminalia muelleri Benth* berwarna kuning dengan rendemen 0,14%. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pereaksi geser dan spektrofotometer FTIR diduga senyawa flavonoid merupakan senyawa herbasetin. Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus Epidermidis* dan *Pseudomonas Aeruginosa* pada konsentrasi ekstrak etil asetat 1% dan fraksi EC<sub>14</sub> 5% memiliki daya hambat yang sedang. Adapun menurut Tasneem dan Narsegowda (2019), ekstrak etanol daun ketapang menunjukkan keberadaan fenol, flavonoid, tanin, steroid dan alkaloid dari dua varietas daun ketapang berbeda, yaitu daun berwarna kuning dan merah. Potensi radikal dari ekstrak daun

metanol dari 2 varietas berbeda *Terminalia catappa* menunjukkan efek yang luar biasa dengan nilai  $IC_{50}$  berkisar antara 3,54 - 5,52  $\mu\text{g/ml}$  yang sebanding dengan standar (asam askorbat).

Fraksi air ekstrak metanol ketapang (*Terminalia catappa L*) telah diselidiki untuk aktivitas pengambilan radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan jumlah total fenolik menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Ditemukan bahwa fraksi air ekstrak metanol dari ketapang diuji menunjukkan DPPH radikal bebas yang signifikan dengan nilai  $IC_{50}$   $34,071 \pm 0,424 \mu\text{g/ml}$ . Jumlah dari kadar fenolik total adalah  $5,429 \pm 0,110 \text{ mg}$  nilai massa ekuivalen asam galat per gram fraksi berair dari ekstrak metanol daun ketapang (Sahala dkk, 2012). Total fenolat dan kandungan flavonoid dari ekstrak daun ditemukan 345,02 dan ekstrak 51,67 mg/g. Pemberian ekstrak etanol *Terminalia catappa L* (50 dan 200 mg/kg) meningkatkan masa hidup (27,82% dan 50,59%), meningkatkan jumlah sel peritoneal ( $8,85 \pm 0,20$  dan  $10,37 \pm 0,26$ ) dan secara signifikan menurunkan massa tumor padat ( $1,16 \pm$

0,15 cm<sup>2</sup>) pada 200 mg/kg dibandingkan dengan tikus yang mengandung EAC-tumor ( $P < 0,01$ ). Profil hematologi termasuk jumlah sel darah merah, jumlah sel darah putih, hemoglobin (11,91  $\pm$  0,47% g) dan estimasi protein ditemukan pada level yang hampir normal pada tikus yang diberi ekstrak dibandingkan dengan tikus kontrol bantalan tumor. Pengobatan dengan *Terminalia catappa L* menunjukkan efek antitumor dengan memodulasi LPO dan menambah sistem pertahanan antioksidan pada tikus bantalan EAC (Pandya dkk, 2012). Chandel dkk(2019) juga melaporkan bahwa tanaman genus *Terminaliabellerica* pada ekstrak etanol beserta fraksinasinya (kloroform, etil asetat, n-butanol dan air), memiliki aktivitas menangkap radikal bebas dengan nilai masing-masing 7,16  $\mu\text{g/ml}$ ; 20,41  $\mu\text{g/ml}$ ; 6,44  $\mu\text{g/ml}$ ; 7,58  $\mu\text{g/ml}$ ; dan 41,18  $\mu\text{g/ml}$ .

Berdasarkan penelitian diatas, kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) sangat berpotensi sebagai aktivitas antioksidan. Pada penelitian sebelumnya menggunakan daun yang masih segar, sehingga

pada penelitian ini menggunakan limbah daun ketapang sebagai sampel yang kemungkinan mengandung senyawa metabolit sekunder yang masih memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang diharapkan lebih efektif dari antioksidan sintesis.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan secara eksperimen laboratorium dengan tahapan penyiapan simplisia, ekstraksi, uji fitokimia, uji antioksidan.

#### **B. Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium UIN Walisongo Semarang untuk melaksanakan proses pengolahan sampai pengujian sampel limbah daun ketapang (*Terminalia Catappa L*) yang diambilkan dari kampus UIN Walisongo Semarang.

#### **C. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Penelitian ini alat yang digunakan ada beberapa tahapan yaitu :

##### **a. Pembuatan Simplisia**

Dalam pembuatan simplisia digunakan pisau atau gunting untuk memotong limbah daun ketapang. Kemudian blender



(Philiphs) untuk mengubah limbah daun ketapang menjadi serbuk simplisia.

b. Maserasi

Simplisia limbah daun ketapang ditimbang dengan neraca analitik. Kemudian digunakan toples kaca sebagai tempat untuk merendam simplisia dengan pelarut.

c. Evaporasi

Ekstrak (maserat) limbah daun ketapang dievaporasi menggunakan Vacum Rotary Evaporator (DLAB RE100-Pro) untuk menguapkan pelarut dalam maserat.

d. Uji Antioksidan

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui nilai absorbansi sampel.

## 2. Bahan

Penelitian ini bahan-bahan yang digunakan adalah :

a. Limbah Daun Ketapang

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah daun ketapang (*Terminalia Catappa L*) dari kampus 2 UIN Walisongo Semarang.

b. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, n-heksan, etil asetat dan aquades.

c. Uji Fitokimia

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji fitokimia adalah  $H_2SO_4$  2M,  $H_2SO_4$  pekat, kloroform, HCl pekat, asetat anhidrat, serbuk Mg,  $FeCl_3$ , amoniak 10%, tembaga asetat, pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, HCl 2 N, kertas saring dan alumunium foil.

d. Uji Antioksidan

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji antioksidan adalah DPPH, ekstrak kering limbah daun ketapang, kuersetin, vitamin C (asam askorbat)

#### **D. Prosedur Kerja**

Proses persiapan dan pengujian sampel dalam penelitian ini diawali dengan proses persiapan simplisia untuk ekstraksi. Hasil ekstraksi kemudian dievaporasi dan dikeringkan. Ekstrak yang diperoleh dilakukan fraksinasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan n-butanol. Fraksi n-butanol kemudian dievaporasi dan dikeringkan. Fraksi n-butanol kering kemudian dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan.

Adapun rincian proses persiapan dan pengujian sampel dalam penelitian ini adalah:

##### **1. Persiapan Simplisia**

Sampel disortasi dan dicuci untuk menghilangkan pengotor yang menempel. Limbah daun ketapang diperkecil ukurannya dengan cara dipotong-potong menggunakan gunting. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama 1 minggu dan di haluskan dengan menggunakan blender. Kemudian di timbang sebanyak 1 kg. Disimpan sampai analisis (Gracia dkk, 2012).

## 2. Ekstraksi

Sebanyak 1 kg sampel dimaserasi menggunakan pelarut etanol sampai semua sampel terendam (kurang lebih 3-5 cm diatas serbuk simplisia). Diamkan selama 24jam. Hasil maserat pertama disaring, kemudian residu dilakukan remaserasi sebanyak 3-5 kali hingga diperoleh ekstrak cair yang bening. Seluruh ekstrak etanol cair dikumpulkan, lalu diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak etanol ditimbang untuk dihitung rendemennya.

## 3. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi menggunakan corong pisah. Ekstrak etanol yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya, yaitu: n-heksan, etil asetat dan n-butanol (Madikiela dkk, 2014; Sofawati, 2012).

Ekstrak etanol kering disuspensi dalam air:etanol (9:1) sebelum difraksinasi.

Kemudian dipartisi dengan menambahkan 150 ml heksana, kemudian dikocok dengan kuat. Diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Pisahkan lapisan ekstrak air (lapisan bagian bawah) dengan lapisan ekstrak/fraksi heksana (lapisan bagian atas). Lapisan air direfraksinasi sebanyak 3 kali dengan jumlah pelarut yang sama (Madikiela dkk, 2014; Sofawati, 2012).

Lapisan ekstrak air yang tersisa difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan etil asetat. Diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan lapisan air. Pisahkan lapisan ekstrak air (lapisan bagian bawah) dengan lapisan ekstrak/fraksi etil asetat (lapisan bagian atas). Lapisan air direfraksinasi sebanyak 3 kali dengan jumlah pelarut yang sama (Madikiela dkk, 2014; Sofawati, 2012).

Lapisan ekstrak air yang tersisa difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan n-butanol. Diamkan hingga

terbentuk dua lapisan. Sehingga diperoleh fraksi n-butanol dan lapisan air. Fraksi n-butanol yang dihasilkan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator*, sehingga diperoleh n-butanol yang kental. Fraksi n-butanol selanjutnya ditimbang dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C.

#### 4. Uji Fitokimia

##### a. Alkaloid

###### 1. Uji Mayer

1 ml sampel ditambahkan 2-3 tetes reagen meyer. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kuning (Tiwari dkk, 2011).

###### 2. Uji Dragendroff

1 ml sampel ditambahkan 2-3 tetes reagen dragendroff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga hingga merah (Mangela dkk, 2016; Tiwari dkk, 2011).

##### b. Flavonoid

1 ml larutan sampel ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna jingga, merah muda, atau merah (Mangela dkk, 2016)

##### c. Saponin

1 ml ekstrak dan 1 ml etanol dituangkan dalam tabung reaksi. 20 ml akuades ditambahkan dan dikocok selama 15 menit.

Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi  $\pm 1$  cm selama kurang lebih 20 menit (Kumoro, 2015).

d. Steroid dan Triterpenoid

1ml sampel ditambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat, kemudian dididihkan dan didinginkan. Asam sulfat pekat dituangkan secara perlahan melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk cincin berwarna coklat pada pertemuan dua lapisan dan lapisan atas berubah menjadi warna hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan jika terbentuk warna merah menunjukkan adanya triterpenoid (Kumoro, 2015).

e. Fenol

1ml ekstrak simplisia ditambahkan dengan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  0,1%. Adanya fenol ditandai dengan terbentuk larutan berwarna hijau atau hijau biru, hitam kebiruan (Syafitri dkk, 2014; Tiwari dkk, 2011).



f. Tanin

1 ml ekstrak ditambahkan 2 ml akuades di tabung tabung uji. Ditambahkan 2-3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1 %. Adanya tannin (*catechic tanin*) ditandai dengan terbentuknya warna biru-hijau, sedangkan adanya tannin (*gallic tanin*) ditandai dengan terbentuknya warna biru-hitam (Kumoro, 2015).

## 5. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan mengacu pada metode yang dilakukan oleh (Marinova dan Batchvarov, 2011).

### a. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 2,4 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml etanol p.a., sehingga diperoleh konsentrasi 0,06 mM.

### b. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH konsentrasi 0,06 mM ditentukan nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505-530 nm, sehingga diperoleh panjang gelombang optimumnya.

### c. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 3 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 30 ml etanol p.a., kemudian dikocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan uji tersebut diencerkan untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,01

ppm; 0,05 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; dan 1,5 ppm.

d. Pengujian Larutan Uji

1,8 ml larutan ekstrak ditambahkan kedalam 1,8 ml larutan DPPH, selanjutnya dikocok hingga homogen. Didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan ruang yang gelap. Kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

e. Pembuatan Larutan Kuersetin

Sebanyak 1 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a., sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan uji tersebut diencerkan untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,03125 ppm; 0,0625 ppm; 0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; dan 1 ppm.

f. Pengujian Larutan Pembanding Kuersetin

1,8 ml larutan pembanding ditambahkan kedalam 1,8 ml larutan DPPH, selanjutnya dikocok hingga homogen. Didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan ruang yang gelap.

Kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

g. Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Sebanyak 1 mg asam askorbat ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a., sehingga diperoleh konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan uji tersebut diencerkan untuk membuat larutan dengan konsentrasi 0,03125 ppm; 0,0625 ppm; 0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; dan 1 ppm.

h. Pengujian Larutan Pembanding Asam Askorbat

1,8 ml larutan pembanding ditambahkan kedalam 1,8 ml larutan DPPH, selanjutnya dikocok hingga homogen. Didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan ruang yang gelap. Kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

## E. Teknik Analisis Data

### a. Persentase Penghambatan Senyawa Radikal Bebas DPPH

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_b$  = absorbansi blanko (ppm)

$A_s$  = absorbansi senyawa uji (cm<sup>-1</sup>)

(Fitriana dkk, 2015)

### b. Penentuan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC<sub>50</sub>)

Konsentrasi sampel dan persen penghambatan diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear (Huliselan dkk, 2015).

Bentuk persamaannya adalah:

$$y = ax + b$$

Nilai IC<sub>50</sub> diwakili oleh nilai x dalam persamaan tersebut. Nilai y sebesar 50, karena penghambatan yang dicari sebesar 50%, sedangkan nilai a dan b didapatkan dari hasil penggambaran kurva x terhadap y.

## **BAB IV**

### **DESKRIPSI DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Deskripsi Data**

##### **1. Simplisia**

Serbuk limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*) yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 1 kg. Serbuk berupa limbah daun ketapang yang sudah dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan disortir berdasarkan daun yang habis jatuh dari pohon.

##### **2. Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, yaitu dengan perendaman pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol limbah daun ketapang yang dihasilkan dari proses maserasi simplisia yaitu 109,32 g, sehingga didapatkan rendemen 10,9329 %. Kemudian dari hasil fraksi n-butanol kental didapatkan 9,29 g dengan rendemen 8,49 %.

##### **3. Penapisan Fitokimia**

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, dalam senyawa metabolit sekunder

pada fraksi n-butanol limbah daun ketapang mengandung senyawa flavonoid, steroid, fenol dan tannin. Seperti tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1. Hasil Uji Kandungan Senyawa Aktif Pada Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang.

Golongan Senyawa Aktif	Fraksi n-Butanol
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Steroid	+
Fenol	+
Saponin	-
Tanin	+

Keterangan:

+ = positif

- = negative

#### 4. Uji Antioksidan

##### a. Optimasi Panjang gelombang DPPH

Panjang gelombang maksimum larutan DPPH ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang rentang dari 505-530 nm. Hasil dari nilai absorbansi pada pengukuran panjang gelombang dalam larutan DPPH terdapat dalam L.1. Pengukuran panjang gelombang larutan

DPPH memiliki nilai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dengan nilai absorbansi penyerapan  $0,589 \text{ cm}^{-1}$ .

b. Uji Antioksidan Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang

Nilai absorbansi fraksi n-butanol limbah daun ketapang diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan konsentrasi yang memiliki variasi berbeda yaitu 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,025 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Masing-masing konsentrasi dari nilai absorbansi yang telah didapatkan, konsentrasi tersebut digunakan untuk menentukan nilai persentase inhibisi (%I) dari fraksi n-butanol limbah daun ketapang terhadap radikal bebas DPPH. Seperti tabel 4.2. dibawah ini:

Tabel 4.2. Persentase penghambat DPPH oleh fraksi n-butanol limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*)

No.	Konsentrasi(ppm)	%I (rata-rata) $\pm$ stdev
1	0,01	$37,38 \pm 0,27$
2	0,05	$41,93 \pm 3,68$
3	0,025	$47,42 \pm 1,30$



4	0,5	51,30 ± 1,02
5	1	67,05 ± 2,38
6	1,5	78,58 ± 2,80

Keterangan:

Konsentrasi = Konsentrasi sampel (ppm)

% I rata-rata = Persentase penghambat

Stdev = Standar deviasi

c. Uji Antioksidan Senyawa Perbandingan

1. Vitamin C (Asam Askorbat)

Pengukuran dari hasil nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan konsentrasi yang memiliki variasi berbeda yaitu 0,03125 ppm, 0,0625 ppm, 0,125 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm. Masing-masing konsentrasi memiliki nilai absorbansi dengan persentase penghambat terhadap DPPH oleh senyawa perbandingan vitamin C (asam askorbat). Seperti tabel 4.3 dibawah ini:

Tabel 4.3 Persentase penghambat  
DPPH oleh Asam askorbat

No	Konsentrasi (ppm)	%I (Rata-rata) ± stdev
1	0,03125	47,27 ± 1,43
2	0,0625	49,37 ± 0,23
3	0,125	50,15 ± 0,3
4	0,25	53,14 ± 0,39
5	0,5	62,14 ± 3,31
6	1	76,40 ± 0,44

Keterangan:

Konsentrasi = Konsentrasi sampel (ppm)

% Irata-rata= Persentase penghambat

Stdev = Standar deviasi

## 2. Kuersetin

Pengukuran dari hasil nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan konsentrasi yang memiliki variasi berbeda yaitu 0,03125 ppm, 0,0625 ppm, 0,125 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm. Masing-masing konsentrasi memiliki nilai absorbansi dengan persentase penghambat DPPH terhadap senyawa pembanding kuersetin. Seperti tabel 4.4. dibawah ini :

Tabel 4.4 Persentase penghambat DPPH  
oleh Kuersetin

No	Konsentrasi (ppm)	%I (rata-rata) ± stdev
1	0,03125	48,80 ± 0,12
2	0,0625	49,65 ± 0,07
3	0,125	50,50 ± 0,25
4	0,25	50,78 ± 0,07
5	0,5	53,33 ± 0,33
6	1	56,80 ± 0,03

Keterangan:

Konsentrasi = Konsentrasi sampel (ppm)

% Irata-rata= Persentase penghambat

Stdev = Standar deviasi

## B. Analisis Data

### 1. Penyiapan Sampel

Penelitian ini menggunakan bahan dari limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*) yang berasal dari famili *combretaceace*. Sampel limbah daun ketapang diperoleh dari lingkungan sekitar UIN Walisongo Semarang. Penyiapan sampel yang telah preparasi melalui proses pencucian, pengeringan dan penyerbukan pada sampel. Proses pencucian sampel yang dilakukan bertujuan untuk menghilangkan

kotoran-kotoran yang menempel pada limbah daun ketapang. Proses pengeringan selanjutnya dilakukan dengan cara diangin-anginkan diudara terbuka dan terlindung dari paparan sinar matahari secara langsung selama waktu tertentu ( $\pm 7$  hari) dengan tujuan untuk mendapatkan simplisia agar tidak mudah rusak, karena dengan mengurangi kadar air yang terdapat pada limbah daun ketapang supaya dapat mencegah kerusakan senyawa yang terdapat didalam simplisia dari pembusukan (Depkes RI, 1985). Proses yang terakhir adalah penyerbukan, proses penyerbukan sampel dilakukan dengan cara pemblenderan. Didapatkan hasil simplisia dari sampel berupa sampel yang halus, kering, dan berwarna coklat.

## **2. Ekstraksi**

Hasil simplisia dari sampel yang sudah menjadi serbuk kering sebanyak 1 kg, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode maserasi yang dipilih karena proses pengujian yang

dilakukan peralatan yang cukup sederhana dan cara pengerjaannya mudah. Prinsip dari teknik maserasi keuntungan dari metode ini selain murah dan cepat dilakukan, senyawa yang terdapat didalam membran dan dinding sel akan terjadi pemecahan karena perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada didalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Veronita dkk, 2017). Keuntungan dari metode maserasi yang berupa ekstraksi dingin yang digunakan dan paling sederhana diantara metode lain, yaitu hanya dengan merendam sampel didalam pelarut sesuai dengan kebutuhan. Tujuan dari penyerbukan sampel untuk memperluas bidang sentuh antara etanol dan serbuk simplisa, sehingga penyaringan pada ekstrak akan lebih efektif. Pada saat proses maserasi, konsentrasi yang terdapat diluar sel lebih tinggi daripada konsentrasi yang terdapat didalam sel, sehingga isi sel termasuk zat aktif akan keluar dari pelarut.

Proses maserasi ini pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 96% karena pelarut ini sudah banyak dilakukan untuk senyawa organik bahan alam yang dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder dengan sempurna dan memudahkan untuk menarik senyawa yang bersifat polar serta bisa mendapatkan hasil yang efektif untuk mengekstrak senyawa antioksidan (Rahayu dkk, 2009). Filtrat dari hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, lalu dipisahkan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 45-50°C. Evaporasi dilakukan pada suhu sedang agar senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tidak rusak. Sehingga proses maserasi ini diperoleh ekstrak kental sebanyak 109,32 gram dengan rendemen 10,9329%.

Hasil dari ekstrak kental yang diperoleh, selanjutnya dilakukan proses fraksinasi. Proses fraksinasi ini pelarut yang digunakan adalah pelarut n-butanol. Fraksinasi yang dilakukan sesuai dengan tingkat kepolarannya yang semakin meningkat, dimulai dari pelarut

nonpolar hingga pelarut polar yaitu n-hexsan, etil asetat, dan yang terakhir n-butanol. Tujuan dari fraksinasi ini agar senyawa yang diperoleh lebih spesifik ke pelarut polar yang dapat memisahkan senyawa kimia yang tidak diharapkan dan dapat memperoleh senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas penangkal radikal bebas, sehingga pelarut n-butanol yang dipilih karena tingkat kepolarannya lebih rendah dari pelarut lain agar lebih mudah dipisahkan dengan fraksi air. Ekstrak etanol disuspensi menggunakan pelarut etanol-air dengan perbandingan (9:1), kemudian dikocok dengan kuat sehingga terbentuk menjadi dua lapisan yaitu lapisan atas merupakan pelarut etanol dan lapisan bawah merupakan pelarut air. Proses fraksinasi yang dilakukan menggunakan metode corong pisah agar sifat kepolaran pada suatu ekstrak yang dihasilkan dari proses fraksinasi ini dengan menggunakan dua macam pelarut supaya terbentuk menjadi dua lapisan agar mudah untuk dipisahkan dan tidak saling bercampur.

Lapisan bawah yang berupa air, kemudian difraksinasi dengan cara yang sama menggunakan pelarut n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi air, dilanjutkan dari fraksi air difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Lapisan air dari hasil fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat, kemudian yang terakhir difraksinasi kembali menggunakan pelarut n-butanol hingga diperoleh fraksi n-butanol dan fraksi air. Proses fraksinasi yang bersifat polar pelarut yang dipilih adalah pelarut n-butanol karena tingkat kepolarannya lebih rendah dari pelarut polar lainnya sehingga lebih mudah dipisahkan dari fraksi air. Lapisan n-butanol dipisahkan, lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi n-butanol kental. Fraksi n-butanol kental yang diperoleh ditimbang hingga diperoleh 9,29 gram dengan rendemen 8,49 %. Dari proses fraksinasi ini sesuai dengan prinsip kelarutan *like dissolve like*, diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat polar



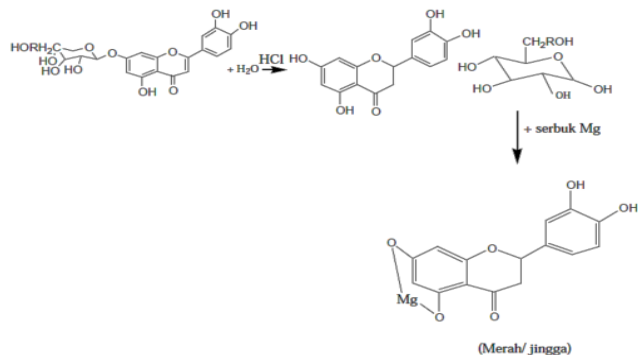
akan larut dalam pelarut polar. Sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar. Sehingga bahan dan senyawa kimia akan mudah larut dalam pelarut yang relatif sama dengan tingkat kepolarannya (Wawolumaya, 2012).

### **3. Penapisan Fitokimia**

Dari hasil fraksi n-butanol dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder apasaja yang terkandung dalam makhluk hidup, yaitu mengenai struktur kimia, perubahan metabolisme, biosintesis, serta fungsi biologi dari suatu bahan yang sedang dianalisa (harbone, 1987). Berdasarkan uji yang telah dilakukan senyawa yang terkandung dalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang adalah flavonoid, steroid, fenol, dan tanin.

Pada pengujian flavonoid, fraksi n-butanol dari limbah daun ketapang direaksikan dengan logam Mg akan terbentuk kuning. Senyawa flavonoid merupakan reaksi oksidasi, dimana senyawa flavonoid akan dioksidasi oleh  $Mg^{2+}$  dengan membentuk kompleks dengan ion

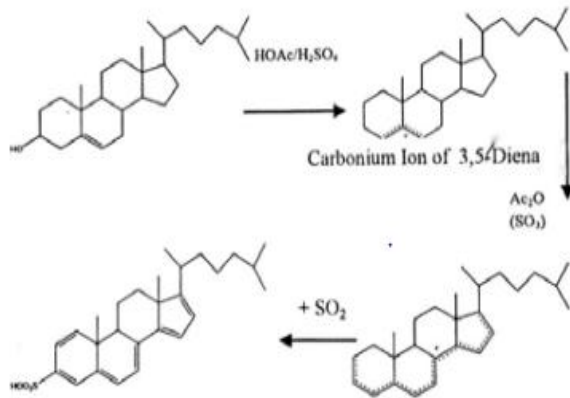
magnesium. Menunjukkan kandungan positif flavonoid apabila terbentuknya warna jingga. Polihidroksi dari flavon akan direduksi oleh logam magnesium dalam asam klorida dalam larutan etanol sehingga membentuk garam benzopirilium yang berwarna merah, kuning, atau disebut garam flavilium. Adapun reaksi kimia yang terjadi seperti gambar 4.1 sebagai berikut :



Gambar 4.1. Dugaan reaksi senyawa Flavonoid dengan HCl pekat dan serbuk Mg (Halimah, 2010)

Hasil uji terhadap fraksi n-butanol limbah daun ketapang dengan reagen Liebermann-bouchard menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna

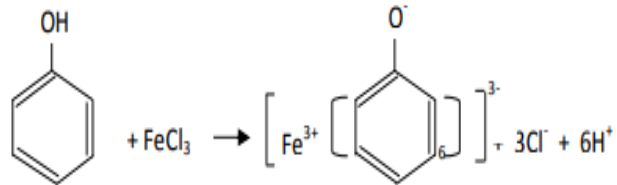
hijau dengan menggunakan pereaksi  $H_2SO_4$ . Peristiwa ini menunjukkan adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa steroid (Setyowati dkk, 2014). Adapun reaksi kimia yang terjadi seperti gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4.2. Dugaan reaksi senyawa steroid dengan Liebermann-bouchard (Setiabudi, 2017)

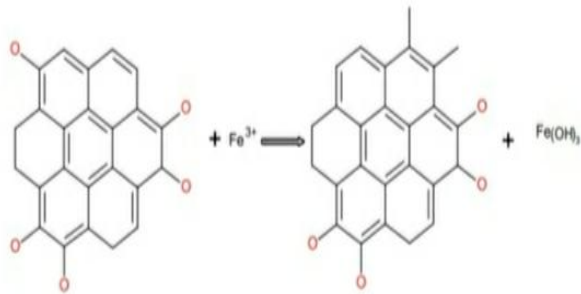
Fraksi n-butanol limbah daun ketapang menggunakan  $FeCl_3$ . Senyawa fenol merupakan reaksi pengomplekan dimana ion  $Fe^{3+}$  dari reagen  $FeCl_3$  membentuk kompleks dengan senyawa fenol berwarna hitam kebiruan. Dikatakan positif mengandung senyawa fenol apabila terbeuk warna hitam kebiruan pada

fraksi n-butanol. Adapun reaksi kimia yang terjadi seperti gambar 4.3 sebagai berikut :



Gambar 4.3. Dugaan reaksi senyawa fenol dengan  $\text{FeCl}_3$  (Arum,2012)

Perekasi besi (III) klorida digunakan secara luas untuk mengidentifkasi senyawa fenol/polifenol/tanin. Pengujian tanin dilakukan dengan melakukan penambahan  $\text{FeCl}_3$  diperkirakan akan menimbulkan warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan (Sangi dkk, 2013). Uji tanin menunjukkan hasil positif karena ditandai dengan terbentuk warna biru kehitaman (Kumoro, 2015). Adapun reaksi kimia yang terjadi seperti gambar 4.4 sebagai berikut :



Gambar 4.4. Dugaan reaksi senyawa tanin  
(Najib, 2017)

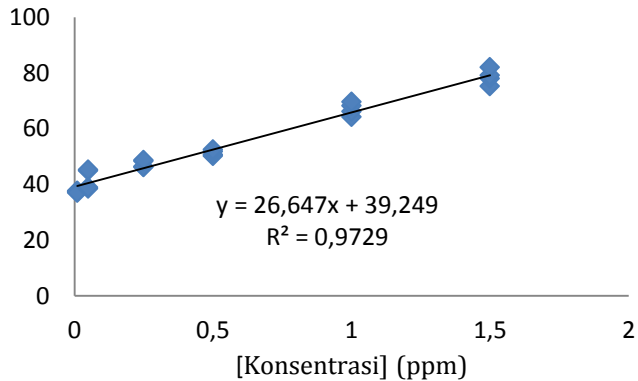
#### 4. Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang diuji menggunakan metode penangkal radikal bebas DPPH. Metode DPPH dipilih karena terbukti lebih efisien, efektif, cepat, mudah, dan sederhana untuk skrining aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa. Penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH dapat memberikan informasi mengenai senyawa aktivitas antioksidan yang dapat diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Amra, 2014). Pengujian fraksi n-butanol limbah daun ketapang

dilakukan untuk mengetahui bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai absorbansi terhadap DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran terhadap senyawa kontrol untuk penurunan nilai absorbansi DPPH yaitu menggunakan pelarut etanol p.a tanpa penambahan sampel. Terjadinya penurunan sampel terhadap nilai absorbansi DPPH dapat diketahui dari perubahan warna ungu menjadi kuning. Besarnya nilai absorbansi DPPH yang didapatkan berbanding terbalik dengan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan (Aprilia, 2017).

Larutan pereaksi DPPH pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan adalah 0,06 mM. Larutan standar etanol p.a., sebanyak 2 ml direaksikan dengan 1,8 ml larutan DPPH dalam tabung reaksi. Pengaturan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian pada larutan uji terhadap sampel dengan konsentrasi 0,01 ppm, 0,05 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm,

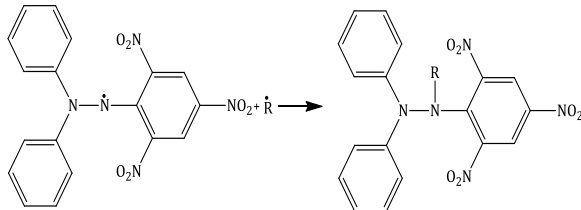
dan 1,5 ppm. Untuk mempercepat terjadinya pereaksi DPPH dianalisis terlebih dahulu sampel yang diuji didiamkan selama 30 menit. Seperti gambar 4.5 dibawah ini:



Gambar 4.5 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*)

Hasil dari penggambaran kurva berdasarkan persentase penghambat terhadap konsentrasi fraksi n-butanol limbah daun ketapang pada gambar 4.5 memiliki persamaan regresi linear fraksi n-butanol adalah  $y = 26,64x + 39,249$  dengan nilai  $R^2 = 0,972$ . Berdasarkan perhitungan dari nilai regresi linear diperoleh nilai IC50 sebesar 0,4039  $\mu\text{g/ml}$ .

Prinsip metode DPPH adalah penangkalan radikal bebas melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga dapat menangkap satu elektron dari antioksidan, yang menyebabkan terjadinya perubahan warna pada DPPH yang awal mulanya ungu pucat berubah menjadi kuning pucat. Berikut ini adalah mekanisme reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari antioksidan, ditunjukkan pada gambar 4.6 dibawah ini:

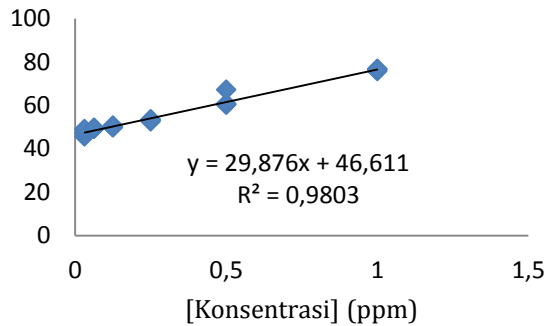


Gambar 4.6. Metode penangkapan radikal bebas  
(Shalaby & Shanab, 2013)

Nilai persentase penghambat radikal DPPH (%I) digunakan untuk menghitung nilai absorbansi kontrol atau absorbansi sampel. Kurva regresi linier dan persamaan dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan nilai absorbansi sebagai sumbu y yang diperoleh,

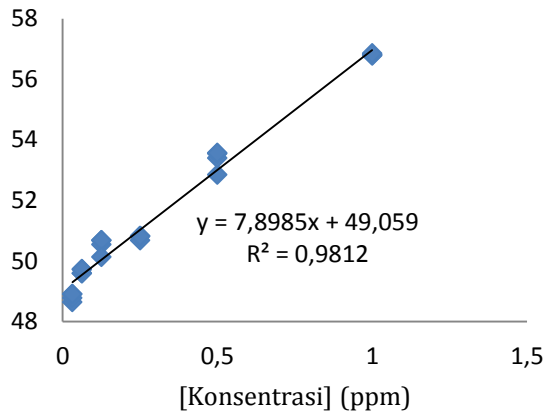


persamaan regresi linier yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  dengan mengganti sumbu y menjadi angka 50 pada persamaan regresi linier. Nilai  $IC_{50}$  adalah suatu konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebanyak 50% pada konsentrasi sampel uji. Konsentrasi nilai  $IC_{50}$  semakin kecil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada sampel uji semakin besar. Nilai  $IC_{50}$  semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Tingkat kekuatan pada antioksidan dibagi menjadi 4 level, yaitu sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat ( $IC_{50}$  50-100 ppm), sedang ( $IC_{50}$  100-150 ppm), dan lemah ( $IC_{50}$  250-500 ppm) (Zuhra dkk, 2008). Penelitian ini menggunakan senyawa pembanding asam askorbat dan kuersetin. Seperti gambar 4.7 dan 4.8 dibawah ini:



Gambar 4.7 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam askorbat

Berdasarkan hasil penggambaran kurva persentase penghambat terhadap konsentrasi asam askorbat pada gambar 4.7 persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam askorbat adalah  $y = 29,87x + 46,61$  dengan  $R^2 = 0,980$ . Perhitungan dari nilai regresi linier, diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar  $0,11349 \mu\text{g/ml}$ .



Gambar 4.8 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan kuersetin

Berdasarkan hasil penggambaran kurva persentase penghambat terhadap konsentrasi kuersetin pada Gambar 4.8 persamaan regresi linear aktivitas antioksidan kuersetin adalah  $y = 7,898x + 49,05$  dengan  $R^2 = 0,981$ . Perhitungan dari nilai regresi linier, diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar  $0,12028 \mu\text{g/ml}$ .

Senyawa pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat dan kuersetin. Nilai  $IC_{50}$  asam askorbat adalah  $0,11349 \mu\text{g/ml}$ , sedangkan nilai  $IC_{50}$  kuersetin adalah  $0,12028 \mu\text{g/ml}$ . Jika dibandingkan

dengan ekstrak, nilai  $IC_{50}$  pada fraksi n-butanol limbah daun ketapang adalah 0,4039  $\mu\text{g/ml}$  memiliki  $IC_{50}$  jauh lebih tinggi. Sehingga aktivitas antioksidan pada senyawa pembanding lebih kecil (sangat kuat) untuk menghambat radikal bebas atau memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi n-butanol limbah daun ketapang.

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan senyawa yang terkandung dalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang adalah flavonoid, steroid, tannin, dan fenol. Peranan senyawa yang ada didalam aktivitas antioksidan yaitu melalui interaksi yang bersifat sinergi atau antagonis. Sinergi adalah interaksi antara dua senyawa aktif yang mengakibatkan aktivitas antioksidan keduanya ketika bersama lebih tinggi daripada secara individu. Sedangkan antagonis adalah interaksi antara dua senyawa aktif yang justru mengakibatkan penurunan

ketika bersama daripada secara individu (Prieto, dkk, 2011).

Berdasarkan penelitian sahala, dkk (2012) bahwa senyawa fenol yang terkandung dalam daun *Terminalia Catappa L* memiliki aktivitas antioksidan  $5,429 \pm 0,110$  mg terhadap DPPH radikal bebas yang signifikan dengan nilai  $IC_{50}$   $34,071 \pm 0,424$   $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, menurut penelitian Tasneem (2019) bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  berkisaran antara 3,54 – 5,52  $\mu\text{g/mL}$  yang sebanding dengan standar. Berdasarkan kedua penelitian tersebut senyawa ini dapat bersifat sinergisitas dalam aktivitas antioksidan dan memiliki potensi sangat baik untuk merumuskan obat herbal.

Menurut penelitian Kumar (2017), menunjukkan bahwa aktivitas radikal DPPH ekstrak etanol dan fraksinya dari kulit kayu dan daun ditemukan paling tinggi pada fraksi n-Butanol dari ekstrak kulit kayu dan daun ( $IC_{50}$ -1,6 mg/ml dan 1,9 mg/ml) dan ekstrak etanol

kasar dari kulit kayu ( $IC_{50}$ - 2.2 mg/ml) dan daun ( $IC_{50}$ -2,3 mg/ml). Kemudian untuk fraksi kloroform aktivitas radikal DPPH yang paling sedikit diamati dari kulit kayu dan daun ( $IC_{50}$ - 10,5 dan 7,0 mg/ml). Dan dibandingkan dengan asam askorbat ( $IC_{50}$ - 2.0 mg/ml) dan ekstrak etanol kasar dari kulit kayu ( $IC_{50}$ - 2.2 mg/ml) dan daun ( $IC_{50}$ - 2.3 mg/ml).

Menurut penelitian Abdulkadir (2013), menunjukkan bahwa ekstrak daun *terminalia catappa L* memiliki kadar total fenolik, kadar total flavonoid tertinggi, aktivitas penangkal radikal DPPH dan mengurangi potensi daya dengan  $285,77 \pm 4,83$  (mg GAE/g),  $59,95 \pm 3,41$  (mg QAE/g),  $43,34$   $IC_{50}$  ( $\mu$ g/ml). Menurut penelitian Chandel dkk, (2019), menunjukkan bahwa aktivitas penangkal radikal DPPH dari ekstrak etanol dan fraksi dari *terminalia bellerica* ekstrak daun dan buah ditemukan paling tinggi adalah fraksi etil asetat dari kedua buah dan ekstrak daun dengan  $IC_{50}$  masing-masing ( $6,03$   $\mu$ g/ml) dan ( $6,44$   $\mu$ g/ml), dibandingkan dengan asam askorbat ( $6,3$

$\mu\text{g/ml}$ ). Urutan penangkal radikal DPPH untuk ekstrak dan buah adalah fraksi etil asetat (6,03  $\mu\text{g/ml}$ ), ekstrak etanol (6,33  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi n-butanol (7,57  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi kloroform (15,39  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi air (97,57  $\mu\text{g/ml}$ ). Sedangkan dalam ekstrak daun urutannya adalah fraksi etil asetat (6,44  $\mu\text{g/ml}$ ), ekstrak etanol mentah (7,16  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi n-butanol (7,58  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi kloroform (20,41  $\mu\text{g/ml}$ ), fraksi air (41,18  $\mu\text{g/ml}$ ).

Berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa hasil penelitian fraksi n-butanol limbah daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  0,4039  $\mu\text{g/ml}$  dibandingkan daun segar *terminalia* dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  (7,58  $\mu\text{g/ml}$  dan 1,9  $\mu\text{g/ml}$ ). Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol limbah daun ketapang berpotensi sebagai antioksidan alami.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan analisis data dan hasil penelitian yang dilakukan, yang untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi n-butanol limbah daun ketapang yang dapat berpotensi sebagai antioksidan alami. Sehingga dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi n-butanol limbah daun ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, steroid, tannin, dan fenol
2. Nilai IC<sub>50</sub> fraksi n-butanol limbah daun ketapang tergolong dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai yang dihasilkan adalah 0,4039 µg/ml.

#### **B. Saran**

1. Diperlukan melakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode lain untuk membandingkan aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang.



2. Diperlukan melakukan identifikasi dan karakteristik senyawa yang terkandung sebagai antioksidan pada fraksi n-butanol limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkadir, 2013. *In Vitro Antioxidant Activity of Ethanolic Extract From Terminalia catappa (L) Leaves and Fruits: Effect of Fruit Ripening*. International journal of Science and Research. 1 (8): 1244-1249.
- Amra. 2014. Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Metode DPPH. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makassar.
- Aprilia. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) dengan Metode DPPH. Skripsi. Fakultas Kedokteran. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ariyanti dkk, 2013. *Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Ketapang Kencana (Terminalia muelleri Benth.) dan Uji aktivitas Sebagai Antibakteri Penyebab Bau Badan*. Chem Info. 1 (1): 94-100.
- Arum, Y. P. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), Jurnal MIPA, 35(2).165-174.

- Aziz, S. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Bachmid F dan Susanty. 2016. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea mays L)*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas teknik. Universitas Muhammadiyah Jakarta. Konversi.
- Chandel dkk, 2019. Sequential Fractionation by Organic Solvents Enhances the Antioxidant and Antibacterial Activity of Ethanolic Extracts of Fruits and Leaves of Terminalia bellerica from North eastern Himalayas, India. *Pharmacogn J*. 2019; 11(1):94-101.
- Depkes R.I. 1985. Cara pembuatan Simplisia. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan.
- Etiena dkk, 2017. *Antioxidants Contents of Terminalia catappa (Combretaceae) Almonds Grown in Cote d'Ivoire*. Archives of current Research Internasional. 10 (3) : 1-12.

- Fesenden, 1994. Kimia Organik. Edisi ketiga. Jakarta: Erlangga.
- Fitriana dkk, 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). SNIPS 2015: 658.
- Garcia R.G., G.C.G.M. Avila. dan C.N. Aguilar. 2012. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. *3 Biotech.* 2: 297–300.
- Gao dkk, 2004. *Hepatoprotective Activity of Terminalia Catappa L. Leaves and its Two Triterpenoids.* Journal Pharmacy and Pharmacology. 56: 1449-1455.
- Halimah, N. 2010. Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman AntingAnting (*Acalypha indica* linn) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. Malang: Kimia UIN Malang.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Terbitan Kedua. Bandung: ITB.

Herawati dkk, 2018. *Studi Perbandingan Metode Isolasi Ekstraksi pelarut dan Destilasi Uap Minyak atsiri Kemangi terhadap Komposisi Senyawa Aktif.* Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan. Jurusan Teknik Kimia Fakultas teknik. Universitas Brawijaya.

Huliselan dkk, 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (Clerodendron Squamatum Vahl.) *Pharmacon.* 4(3): 2302-2493.

Kinoshita dkk, 2007. *Antioxidant and Hepatoprotective Actions of Medicinal Herb, Terminalia Catappa L. from Okinawa Island and its Tannin Corilagin.* *Journal Phytomedicine.* 14: 755-762.

Kumar dkk, 2017. Comparative evaluation of antimicrobial and antioxidant potential of ethanolic extract and its fractions of bark and leaves of *Terminalia arjuna* from north-western Himalayas, India. *Journal of Traditional and Complementary Medicine xxx (2017) 1-7.*

- Kumoro dkk, 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. [Karya Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Lin dkk, 1997. *Evaluation of the Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Terminalia Catappa L.* American Journal of Chinese Medicine. 153-161.
- Lin dkk, 1998. *Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Punicalagin and Punicalin on Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage in Rats.* Journal Pharmacy and Pharmacology. 50: 789-794.
- Madikizela, B., Aderogba, M.A., Finnie, J.F., dan Van Staden, J. 2014. Isolation and characterization of antimicrobial compounds from *Terminalia phanerophlebia* Engl. & Diels leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 156: 228–234.

Mangela dkk, 2016. *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tembelek (Lanata Camara L) berdasarkan tingkat kepolaran pelarut*. Kovalen 2(3): 16-23.

Marinova, G. dan Batchvarov, V. 2011. Evaluation of The Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17 (1): 11-24.

Melwita dkk, 2014. *Ekstraksi Minyak Biji Kapuk dengan Metode Ekstraksi Soxhlet*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya.

Munir dkk, 2018. Evaluation of Antioxidant Potential of Vegetables Waste. *J. Environ. Stud.* (2): 947-952

Mukhriani. 2015. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. Progam Studi Farmasi Fakultas Ilmu kesehatan UIN Alauddin Makassar. Jurnal Kesehatan.

Munira, Rasidah, Mellani, E., Zakiah, N., Nasir, M. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) Warna Hijau dan Warna Merah serta Kombinasinya.

*Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product.* 1 (2).8-13.

Najib. 2017. Ekstraksi Korteks Batang Salam (*Syzygium polyantum*) dengan Etil Asetat dan Uji Aktivitas Antijamur terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus Klavus*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Walisongo Semarang.

Pandya, N B *et al.*, 2013. *Antitumor and Antioxidant Status of Terminalia Catappa Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice.* Article Department of Pharmacology.

Parwata. 2016. *Antioksidan.* Kimia Terapan. Universitas Udayana.

Prakash dkk, (2001). Antioxidant Activity. Medallion Laboratories, Analytical Progress. 19 (2), 1-4.

Prieto dkk. 2011. Quantification, Characterization and Description of Synergy and Antagonism in the Antioxidant Response. *Journal of the science of food and agriculture.* Vol. 2(60) : 1-34.



- Raharjo, T. J. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ramadhan, P. 2015. *Mengenal Antioksidan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Robinson. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padnawinata. Bandung: ITB.
- Rohman & Gandjar. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohman & Riyanto, 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning secara Invitro. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16 (3): 136-137.
- Rumagit, H.M., Runtuwene, M.R.J. & Sudewi, S. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Pharmacon*. 4 (3): 183-191.
- Sahala, Aldo dan C.J. Soegihardjo. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Fenolat Total Fraksi Air Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-

*Picrylhydrazyl*) dan Metode Folin-Ciocal Teu.  
*Jurnal farmasi dan sains*, hlm.91-97.

Sangi, M.S., Momuat, L.I. dan Kumaunang, M., 2013. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepaharen (*Arangepinnata*). Manado : Universitas Sam Ratulangi.

Santoso, 2016. *Antioksidan Pangan*. Yogyakarta: Gadjah mada University Press.

Saroja dkk, 2011. *Antioxidant Activity of Phenolic of Terminalia catappa in Ela Propagated Swiss Albino Mice*. Journal Of Advanced Scientific Research. 2 (3): 70-72.

Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. ISBN ( 979363175-0): 271-280.

Shalaby, E.A. dan Shanab, M.M. 2013. Antioxidant Compound, Assays of Determination and Mode of

Action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7 (10): 528-539.

Sofawati, Devi. 2012. Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi-fraksi Buah Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Dengan Metode Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase dan identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Yang Aktif. *Skripsi*. Universitas Indonesia.

Syafitri, N.E., Bintang, M. & Falah, S. 2014. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don. *Current Biochemistry*. 1 (3): 105-115.

Tahir, M. Indariani dan M. Sitanggang. 165 *Sansevieria* Eksklusif. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka, 2008.

Tasneem, M.I.F. dan Narsegowda, P.N. 2019. Antioxidant Activity of Different Varieties of *Terminalia Catappa*. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 6 (1): 453-456.

Tjitrosoepomo, G. 2001. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. & Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*.1 (1).98-106.
- Triana, E. & Nurhidayat, N. 2016.*Uji Ekstrak Air Daun Ketapang (Terminalia catappa L.) sebagai Pembersih Alami dengan Metode Clean in Place (CIP)*. Prosiding Seminar Nasional II Kerjasama Prodi Pendidikan Biologi FKIP dengan Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan (PSLK) Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 26 Maret 2016.
- Vasic dkk, 2012. *Biological Activities of Extracts from Cultivated Granadilla Passiflora alata*. EXCLI Journal. 11: 2018-218.
- Verawati dkk, 2017. *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (Syzygium Polyanthum (Wight) Walp)*. Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi. Jurnal Katalisator Kopertis.

Wahyuni dan Simon. 2015. *Pengaruh jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid labu kuning dengan metode Gelombang Ultrasonik*. Jurnal pangan dan Agroindustri. Jurusan teknologi hasil Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.

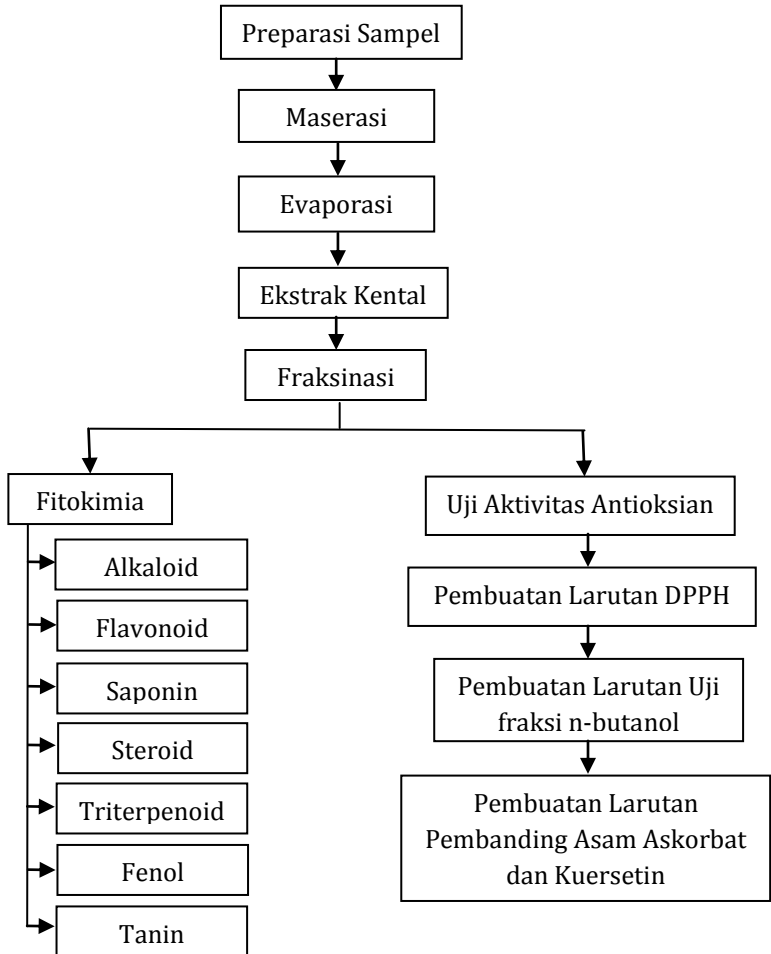
Williams dan Fleming, 2013. *Metode Spektroskopi dalam Kimia Organik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius.

Zuhra dkk. 2008. *Aktivita Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun katuk (Sauropus Androgumus (L) Merr)*. Journal biologi Sumatera. ISSN:1907-5537-3(1):7-10.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian



## Lampiran 2. Perhitungan % rendemen

### 1. Perhitungan rendemen ekstrak etanol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa simplisia}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{109,329 \text{ gr}}{1000 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 10,9329 \%$$

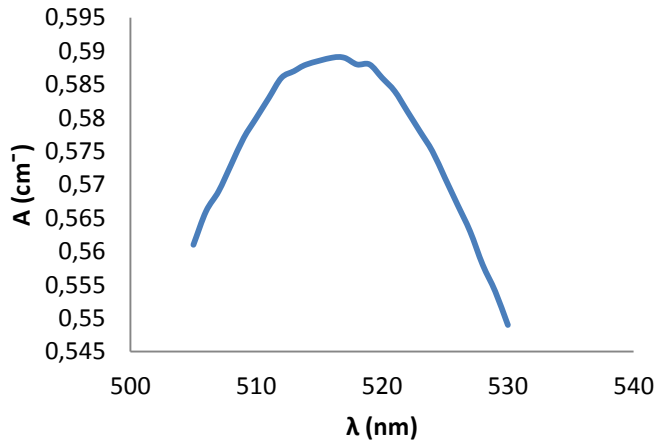
### 2. Perhitungan rendemen fraksi n-butanol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa fraksi}}{\text{massa ekstrak}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{109,329 \text{ gr}}{9,29 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 8,49\%$$

### Lampiran 3. Kurva optimasi panjang gelombang DPPH



Gambar L.1 Kurva optimasi panjang gelombang DPPH

Keterangan:

A = Absorbansi (cm<sup>-1</sup>)

λ = Panjang gelombang (nm)



Lampiran 4. Persentase Penghambat DPPH oleh Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*)

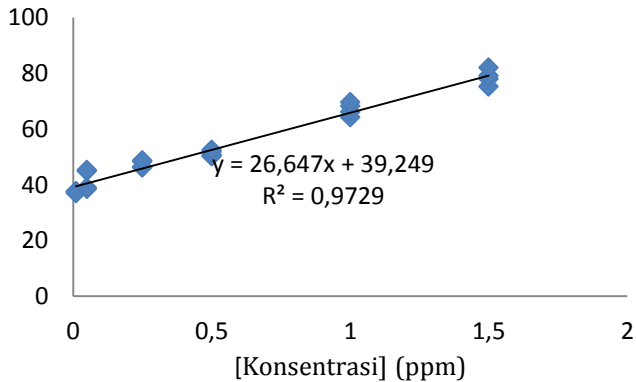
Tabel L.1. Persentase Penghambat DPPH oleh Fraksi n-Butanol Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*)

No.	Fraksi (ppm)	A DPPH	A (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{A}$ (cm <sup>-1</sup> )	I%
1.	0,01	0,589	0,369	37,3514431	37,3876
		0,586	0,365	37,7133106	
		0,585	0,366	37,4358974	
		0,583	0,367	37,0497427	
2.	0,05	0,589	0,362	38,5398981	41,9386
		0,586	0,357	38,974359	
		0,585	0,322	44,957265	
		0,583	0,319	45,2830189	
3.	0,25	0,589	0,317	46,179966	47,4214
		0,586	0,314	46,4163823	
		0,585	0,302	48,3760684	
		0,583	0,299	48,7135506	
4.	0,5	0,589	0,293	50,2546689	51,3048
		0,586	0,289	50,6825939	
		0,585	0,282	51,7948718	
		0,583	0,277	52,4871355	
5.	1	0,589	0,211	64,1765705	67,0582
		0,586	0,198	66,2116041	
		0,585	0,186	68,2051282	
		0,583	0,177	69,6397942	
6.	1,5	0,589	0,146	75,2122241	78,5833
		0,586	0,129	77,9863481	
		0,585	0,122	79,1452991	
		0,583	0,105	81,9897084	

Keterangan:

[Fraksi] = Konsentrasi n-Butanol (ppm)

- A DPPH = Absorbansi DPPH (cm<sup>-1</sup>)  
 A = Absorbansi sampel (cm<sup>-1</sup>)  
 $\bar{A}$  = Rata-rata absorbansi (cm<sup>-1</sup>)  
 % I = Presentase penghambatan (%)



Gambar L.2 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan fraksi n-butanol limbah daun ketapang (*Terminalia catappa L*)

- a. Contoh Perhitungan Presentase Penghambatan (% I) DPPH

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_b$  = absorbansi blanko (cm<sup>-1</sup>)

$A_s$  = absorbansi senyawa uji (cm<sup>-1</sup>)

$A_b = 0,589 \text{ cm}^{-1}$

$A_s = 0,369 \text{ cm}^{-1}$

$$(I\%) = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\%$$

$$(I\%) = \frac{0,589 - 0,369}{0,589} \times 100\%$$

$$(I\%) = 37,35 \%$$

- b. Perhitungan Konsentrasi penghambat 50% ( $IC_{50}$ ). Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = ax + b$$

$$y = 26,64x + 39,24$$

$$50 = 26,64x + 39,24$$

$$x = \frac{50 - 39,24}{26,64}$$

$$x = 0,4039$$

Jadi nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh adalah 0,40 ppm

## Lampiran 5. Persentase Penghambat Asam Askorbat

Tabel L.1. Persentase Penghambat Asam Askorbat

No.	[AS] (ppm)	A DPPH	A (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{A}$ (cm <sup>-1</sup> )	I%
1.	0,03125	0,5	0,272	45,6	47,272
		0,49	0,259	47,1428571	
		0,47	0,248	47,2340426	
		0,45	0,229	49,1111111	
2.	0,0625	0,5	0,252	49,6	49,3720
		0,49	0,249	49,1836735	
		0,47	0,239	49,1489362	
		0,45	0,227	49,5555556	
3.	0,125	0,5	0,247	50,6	50,15
		0,49	0,245	50	
		0,47	0,235	50	
		0,45	0,225	50	
4.	0,25	0,5	0,237	52,6	53,1461
		0,49	0,228	53,4693878	
		0,47	0,219	53,4042553	
		0,45	0,211	53,1111111	
5.	0,5	0,5	0,199	60,2	62,1404
		0,49	0,193	60,6122449	
		0,47	0,185	60,6382979	
		0,45	0,148	67,1111111	
6.	1	0,5	0,121	75,8	76,4004
		0,49	0,116	76,3265306	
		0,47	0,109	76,8085106	
		0,45	0,105	76,6666667	

Keterangan:

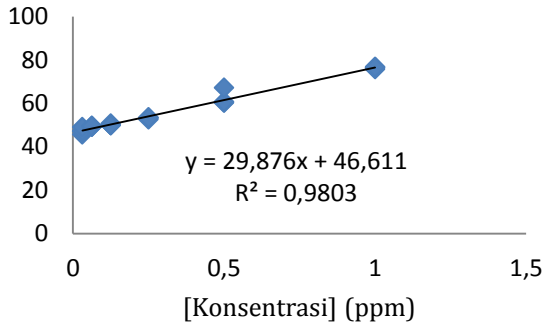
[AS] = Konsentrasi Asam Askorbat (ppm)

A DPPH = Absorbansi DPPH (cm<sup>-1</sup>)

A = Absorbansi sampel (cm<sup>-1</sup>)

$\bar{A}$  = Rata-rata absorbansi (cm<sup>-1</sup>)

% I = Presentase penghambatan (%)



Gambar L.3 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam askorbat

- a. Contoh Perhitungan Persentase Penghambatan (%I) DPPH

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_b$  = absorbansi blanko ( $\text{cm}^{-1}$ )

$A_s$  = absorbansi senyawa uji ( $\text{cm}^{-1}$ )

$A_b = 0,500 \text{ cm}^{-1}$

$A_s = 0,272 \text{ cm}^{-1}$

$$(I\%) = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

$$(I\%) = \frac{0,500 - 0,272}{0,500} \times 100\%$$

$$(I\%) = 45,6 \%$$

- b. Perhitungan Konsentrasi penghambat 50% ( $IC_{50}$ ). Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = ax + b$$

$$y = 29,87x + 46,61$$

$$50 = 29,87x + 46,61$$

$$x = \frac{50 - 46,61}{29,87}$$

$$x = 0,11349$$

Jadi nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh adalah 0,11 ppm

## Lampiran 6. Persentase Penghambat Kuersetin

Tabel L.1. Persentase Penghambat Kuersetin

No.	[K] (ppm)	A DPPH	A (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{A}$ (cm <sup>-1</sup> )	I%
1.	0,03125	0,738	0,379	48,6449864	48,8090
		0,736	0,377	48,7771739	
		0,734	0,375	48,9100817	
		0,73	0,373	48,9041096	
2.	0,0625	0,738	0,372	49,5934959	49,6598
		0,736	0,371	49,5923913	
		0,734	0,369	49,7275204	
		0,73	0,367	49,7260274	
3.	0,125	0,738	0,365	50,5420054	50,5098
		0,736	0,363	50,6793478	
		0,734	0,362	50,6811989	
		0,73	0,364	50,1369863	
4.	0,25	0,738	0,364	50,6775068	50,7830
		0,736	0,362	50,8152174	
		0,734	0,361	50,8174387	
		0,73	0,359	50,8219178	
5.	0,5	0,738	0,348	52,8455285	53,3365
		0,736	0,343	53,3967391	
		0,734	0,341	53,5422343	
		0,73	0,339	53,5616438	
6.	1	0,738	0,319	56,7750678	56,8074
		0,736	0,318	56,7934783	
		0,734	0,317	56,8119891	
		0,73	0,315	56,8493151	

Keterangan:

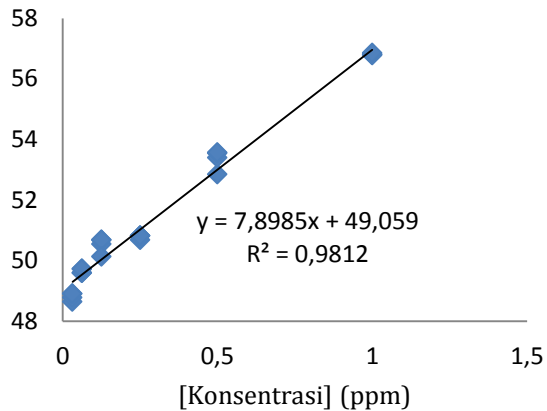
[K] = Konsentrasi Kuersetin (ppm)

A DPPH = Absorbansi DPPH (cm<sup>-1</sup>)

A = Absorbansi sampel (cm<sup>-1</sup>)

$\bar{A}$  = Rata-rata absorbansi (cm<sup>-1</sup>)

% I = Presentase penghambatan (%)



Gambar L.4 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan kuersetin

a. Contoh Perhitungan Persentase Penghambatan (%I) DPPH

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_b$  = absorbansi blanko ( $\text{cm}^{-1}$ )

$A_s$  = absorbansi senyawa uji ( $\text{cm}^{-1}$ )

$A_b = 0,738 \text{ cm}^{-1}$

$A_s = 0,379 \text{ cm}^{-1}$

$$(I\%) = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$



$$(I\%) = \frac{0,738 - 0,379}{0,738} \times 100\%$$

$$(I\%) = 48,64 \%$$

- b. Perhitungan Konsentrasi penghambat 50% ( $IC_{50}$ ).

Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = ax + b$$

$$y = 7,898 x + 49,05$$

$$50 = 7,898 x + 49,05$$

$$x = \frac{50 - 49,05}{7,898}$$

$$x = 0,12028$$

Jadi nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh adalah 0,12 ppm

## Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Gambar L.5. Limbah Daun Ketapang



Gambar L.6. Serbuk Simplisia



Gambar L. 7. Proses Maserasi



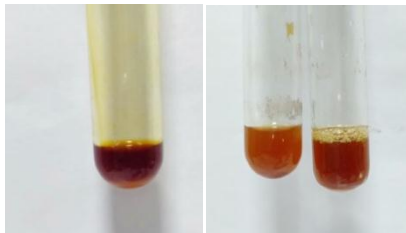
Gambar L.8. Ekstrak Kental



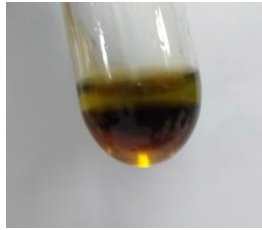
Gambar L.9. Proses Fraksi n-Butanol



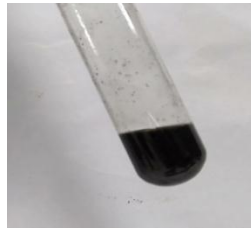
Gambar L.10. Fraksi Kental



Gambar L.11. Uji Flavonoid



Gambar L.12. Uji Steroid



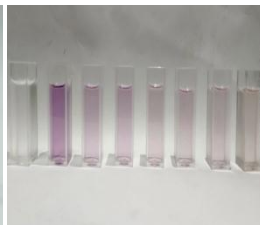
Gambar L.13. Uji Fenol



Gambar L.14. Uji Tanin



Gambar L.15. Larutan DPPH



Gambar L.16. Larutan Uji aktivitas Antioksidan

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



### **Identitas Diri**

Nama Lengkap : Mauliatul Fitriyani  
Tempat, Tgl Lahir : Semarang, 10 Agustus 1996  
NIM : 1508036018  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Pekerjaan : Mahasiswi UIN Walisongo  
Semarang  
Alamat : Banaran RT 07 RW 04, Sekaran,  
Gunungpati, Semarang  
Telepon/HP : 085740666024  
Email : maulia10fitriyani@gmail.com

### **Riwayat Pendidikan**

#### **Formal :**

1. MI AL-IMAN Banaran Tahun 2002 - 2008
2. SMP Ky Ageng Giri Tahun 2008 - 2011
3. SMA Ky Ageng Giri Tahun 2011 - 2014
4. UIN Walisongo Semarang Angkatan 2015

#### **Non Formal :**

1. Ponpes Ky Ageng Girikusumo, Banyumeneng,  
Mranggen, Demak Tahun 2008 - 2014