

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT
LIMBAH DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.)
MENGUNAKAN METODE DPPH (*1,1-difenil-2-
pikrilhidrazin*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Kimia



Oleh:

SHILFI MILLATI WAHIDAH

NIM : 1508036016

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Shilfi Millati Wahidah

NIM : 1508036016

Jurusan/Program Studi: Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT LIMBAH
DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) MENGGUNAKAN
METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin)**

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri,
kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 20 Maret 2020

Pembuat Pernyataan



Shilfi Millati Wahidah

NIM.1508036016



KEMENTERIAN AGAMA R.I
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka (Kampus II) Ngaliyan Semarang
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun
Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode
DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin)

Penulis : Shilfi Millati Wahidah

Jurusan : Kimia

telah diujikan dalam sidang munaqasah 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 Sidang,

Ratih Rizqi Nirwana, S.Si.
NIP.19810414 200501 2 003

Mulyatun, M.Si
NIP.19830504 201101 2 008

Penguji I,

Penguji II,

Ervin Tri Suryandari, S.Si.
NIP.19740716 200912 2 003

M. Likhathul Hidayah, M.Pd
NIP.19830415 200912 2 006

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd
NIP.19810414 200501 2 003

Mutista Hafsah, M.Si
NIP.19940102 201903 2 015

NOTA DINAS

Semarang, 20 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 ETIL
ASETAT LIMBAH DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa* L.) MENGGUNAKAN
METODE DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazin)**

Nama : **Shilfi Millati Wahidah**

NIM : 1508036016

Jurusan : Kimia

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

Wassalamualaikum wr.wb

Pembimbing I



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

NIP. 19810414 200501 2 003

NOTA DINAS

Semarang, 20 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 ETIL
ASETAT LIMBAH DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa* L.) MENGGUNAKAN
METODE DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazin)**

Nama : **Shilfi Millati Wahidah**

NIM : 1508036016

Jurusan : Kimia

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

Wassalamualaikum wr.wb

Pembimbing II



Mutista Hafsah, M.Si.

NIP. 19940102 201903 2 015

ABSTRAK

Nama : Shilfi Millati Wahidah
NIM : 1508036016
Judul : Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun
Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode
DPPH (*1,1-difenil-2-picrilhidrazin*)

Tubuh memerlukan antioksidan guna memproteksi dari serangan radikal bebas. Senyawa antioksidan yang diproduksi oleh tubuh secara fisiologis hanya berperan sebagai regulator dalam metabolisme. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan dari luar untuk memproteksi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan dari luar terbagi menjadi antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik apalagi dikonsumsi dalam jangka panjang akan menimbulkan efek samping salah satunya yaitu penuaan dini. Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dilaporkan dapat digunakan sebagai antioksidan alami, terutama dibagian daun. Kesamaan senyawa metabolit sekunder di daun dan limbah daun yang berpotensi sebagai antioksidan memungkinkan limbah daun juga berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang diuji dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat limbah daun ketapang mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan steroid. Frak etil asetat limbah daun ketapang tergolong kedalam antioksidan yang sangat kuat dengan IC_{50} 0,394 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frakksi etil asetat limbah daun ketapang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Kata Kunci : *Terminalia catappa* L., etil asetat, limbah daun ketapang, antioksidan.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah dan inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin)** di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa penulis panjatkan kepada beliau Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya dengan harapan semoga mendapatkan syafaatnya di hari kiamat nanti.

Dalam kesempatan ini, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada :

1. Dr. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Univesitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
2. Hj. Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Univesitas 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 Jurusan Kimia Univesitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang telah memberikan dan membekali ilmu pengetahuan.
6. Ayahanda Ahmadi dan Ibunda Siti Nuriyatul Hasanah yang tiada henti selalu memberikan do'a, nasehat, motivasi dan kasih sayang dalam mendidik penulis dengan sabar dan ikhlas.
7. Adek-adekku tercinta Himmatul Ulya, Muhammad Faruq Zainudin, dan Kunti Robi'atul Adawiyah yang selalu memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
8. Pengasuh PPPTQ Al-Hikmah Tugurejo Tugu Semarang terkhusus kepada Bapak K.H.Ahmad Amnan Muqoddam beserta Ibunyai Hj.Rofiqotul Makiyyah, A.H. yang selalu memberikan petunjuk, motivasi dan barokah doanya.
9. Rekan-rekan Kamar Ash-Shogiri terkhusus esa, yuni, shofrot, hani, mbak rahma, lenina, ela, mbak ani, mbak vita yang selalu memberi semangat dalam penyelesaian skripsi ini.

10. Sahabat-sahabat Kimia 2015 yang telah memberikan semangat dan warna dalam hidupku sehari-hari selama belajar di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
11. Ketapang Squad (aji, maulia, annisa dan udin) yang selalu memberi semangat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Semua pihak yang telah membantu terselesainya penulisan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT menerimanya sebagai amal sholeh, dan dapat menjadikan perantara bagi kita untuk mendekatkan diri kepada Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa pengetahuan yang penulis miliki masih kurang, sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak guna perbaikan dan penyempurnaan pada penulisan berikutnya.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat khususnya, *Amin Ya Rabbal 'Alamin*.

Semarang, 20 Maret 2020
Penulis,

Shilfi Millati Wahidah
1508036016

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING.....	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	7
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian	7
BAB II. DESKRIPSI TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA	
A. Deskripsi Teori.....	8
1. Ketapang.....	8
2. Metode Ekstraksi.....	10
3. Fraksinasi	12
4. Radikal Bebas.....	13
5. Antioksidan	14
6. Metode Penangkal Radikal Bebas DPPH	16
7. Metabolit Sekunder	18
8. Spektrofotometri UV-Vis.....	23
B. Kajian Pustaka	27
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Alat dan Bahan.....	30
1. Alat.....	30
2. Bahan.....	30
B. Prosedur Kerja.....	30
1. Persiapan Simplisia.....	30
2. Ekstraksi	31
3. Fraksinasi	31
4. Uji Fitokimia.....	32
5. Uji Aktivitas Antioksidan.....	34

C.	Teknik Analisis Data.....	37
1.	Presentase Penghambatan Senyawa Radikal Bebas DPPH.....	37
2.	Penentuan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC ₅₀).....	37
BAB IV. DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA		
A.	Deskripsi Data.....	38
1.	Ekstraksi dan Fraksinasi	38
2.	Uji Fitokimia.....	38
3.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	39
B.	Analisis Data	42
1.	Ekstraksi dan Fraksinasi	42
2.	Uji Fitokimia.....	45
3.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	53
BAB V. PENUTUP		
A.	Kesimpulan.....	61
B.	Saran	61
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		
DAFTAR RIWAYAT HIDUP		

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Struktur DPPH
- Gambar 2.2 Struktur Isoprena
- Gambar 2.3 Kerangka Dasar Flavonoid
- Gambar 2.4 Struktur Umum Kelompok Utama Senyawa flavonoid
- Gambar 2.5 Struktur Katecin dan Leukoantosianin
- Gambar 2.6 Struktur Nikotin dan Kafein
- Gambar 2.7 Rangkaian Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis
- Gambar 4.1 Reaksi Uji Mayer
- Gambar 4.2 Reaksi Uji Dragendroff
- Gambar 4.3 Reaksi Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl
- Gambar 4.4 Reaksi Uji Steroid/Triterpenoid
- Gambar 4.5 Reaksi antara Tanin dan FeCl_3
- Gambar 4.6 Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH
- Gambar 4.7 Reaksi Terbentuknya Warna Kuning Oleh Adanya Antioksidan
- Gambar 4.8 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
- Gambar 4.9 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat
- Gambar 4.10 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Kuersetin

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Limbah Daun
Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Tabel 4.2 Presentase Penghambatan DPPH Oleh Fraksi Etil
Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa*
L.)

Tabel 4.3 Presentase Penghambatan DPPH Oleh Asam Askorbat

Tabel 4.4 Presentase Penghambatan DPPH Oleh Kuersetin

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH
- Lampiran 2. Persentase Penghambatan DPPH oleh Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
- Lampiran 3. Persentase Penghambatan DPPH oleh Asam Askorbat
- Lampiran 4. Persentase Penghambatan DPPH oleh Kuersetin
- Lampiran 5. Perhitungan % Rendemen
- Lampiran 6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan
- Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau memperlambat proses oksidasi. Cara kerja antioksidan yaitu mendonorkan elektron pada senyawa yang bersifat oksidan, yaitu dengan cara pengikatan oksigen dan pelepasan hidrogen (Musarofah, 2015). Tubuh memerlukan antioksidan guna memproteksi dari serangan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan yang dihasilkan didalam tubuh berupa enzim seperti senyawa oksigen reaktif (SOR) dan senyawa nitrogen reaktif (SNR) yang secara fisiologi berperan sebagai pengatur dalam metabolisme. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan dari luar untuk memproteksi tubuh dari serangan radikal bebas. (Musarofah, 2015).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Contoh antioksidan sintetis yang diizinkan dalam penggunaannya yaitu BHA, BHT, TBHQ, dan tokoferol. Sedangkan contoh antioksidan alami yaitu senyawa flavonoid, tanin, vitamin

C, vitamin E dan sebagainya (Musarofah, 2015). BHA dan BHT memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada vitamin C dan vitamin E. Akan tetapi, apabila antioksidan sintetik dikonsumsi secara berlebihan akan menimbulkan efek samping salah satunya adalah penuaan dini (Shalaby dan Shanab, 2013). Maka dari itu, tubuh memerlukan antioksidan alami yang memiliki keamanan dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Indrayana, 2008).

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya dengan tumbuhan dan mewarisi kemampuan dari nenek moyang untuk menjadikannya obat tradisional. Obat tradisional memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia. Gaya hidup *back to nature* menandakan bahwa sesuatu yang tradisional bukanlah suatu hal yang kuno. Banyak penelitian yang dilakukan terhadap tanaman-tanaman yang berpotensi sebagai obat (Muhlisah, 2000). L.), seperti dalam firman Allah swt. dalam QS. Thaha: 53

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ

السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Terjemahannya:

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (Kementereian Agama RI, 2014: 315).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah ketapang (*Terminalia catappa*) (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Ekstrak daun ketapang memiliki manfaat untuk pengobatan diare, gangguan pernapasan, menurunkan darah tinggi dan untuk tambahan dalam bidang kosmetik (Harborne, 1987).

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid, resin, dan saponin (Tjitrosoepomo, 2002). Abdulkadir (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun, buah matang, dan buah mentah *Terminalia catappa* (L.) mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ 43.34 ppm, 95.99 ppm dan 211.06 ppm. Ekstrak etanol daun *Terminalia catappa* (L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding buahnya.

Aktivitas antioksidan juga dilaporkan dari genus *Terminalia*. Sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Chandel *et.al* (2019) bahwa ekstrak etanol beserta fraksinasinya (kloroform, etil asetat, n-butanol dan air)

dari daun *Terminalia bellerica* mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai 7,16 ppm; 20,41 ppm; 6,44 ppm; 7,58 ppm; dan 41,18 ppm.

Ketapang merupakan anggota dari Combretaceae (Tjitrosoepomo, 2001) yang banyak ditemui di lingkungan UIN Walisongo Semarang. Ketapang cocok digunakan sebagai pohon peneduh dikarenakan ketapang memiliki cabang-cabang yang tumbuh mendatar dan bertingkat-tingkat, serta memiliki daun yang sebagian besar berjejalan diujung ranting (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Fungsi ketapang sebagai pohon peneduh di lingkungan UIN Walisongo memiliki produk samping yaitu daun yang berguguran sehingga menjadi limbah.

Penanggulangan yang dilakukan terhadap limbah daun ketapang selama ini hanya membersihkan, membuangnya ditempat penampungan dan dibakar. Asap hasil pembakaran memiliki dampak negatif yaitu mengganggu pernafasan manusia selain itu juga akan menambah konsentrasi CO₂ di udara, walaupun CO₂ dimanfaatkan kembali oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis tetapi hanya sedikit yang dimanfaatkan. Limbah daun ketapang sebenarnya masih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk bidang kesehatan. Dikutip dari (Nurida dkk, 2014) daun gugur ketapang mengandung senyawa

terpenoid dan flavonoid. Senyawa fenolik tersebut memiliki potensi sebagai antioksidan (Kumar *et.al*, 2017).

Pemanfaatan limbah sebagai antioksidan telah dilakukan pada limbah sayuran. Munir *et.al* (2018) melaporkan bahwa limbah sayuran merupakan sumber antioksidan yang baik. Aktivitas antioksidan limbah sayur dalam 80% metanol dan 80% ekstrak etanol berkisar 43,98-57,37% dan 47,28-61,13%. Penelitian mengenai pemanfaatan limbah sebagai antioksidan juga dilakukan pada limbah tanaman. Kuppusamy *et.al* (2015) melaporkan bahwa secara umum mayoritas ekstrak limbah daun menunjukkan jumlah senyawa fenolik yang lebih banyak dibanding dengan bagian tanaman lain.

Pada penelitian ini, dilakukan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol, fraksinasi dengan pelarut etil asetat serta pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl* (DPPH). Metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi. Metode ini dipilih karena sampel yang digunakan tidak harus berupa serbuk halus serta lebih sedikit kehilangan alkohol (Kumoro, 2015). Maserasi dengan pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut polar yang mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang sebagian besar juga bersifat polar (Rahayu dkk, 2009). Metode fraksinasi yang dipilih

adalah fraksinasi cair-cair dengan corong pisah. Pemilihan pelarut etil asetat untuk fraksinasi dikarenakan etil asetat dapat mengekstrak senyawa flavonoid dari ekstrak kasar limbah daun ketapang (Nuria dkk, 2014). Ada beberapa metode untuk uji aktivitas antioksidan yaitu: DPPH, ABTS, FRAP, CURPAC, ORAC, TRAP, dan LDL (Handajani, 2019). Pemilihan metode DPPH dikarenakan metode ini sederhana, murah dan dapat dilakukan dalam skala laboratorium universitas (Abdulkadir, 2015). Parameter yang digunakan dalam metode DPPH yaitu IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat meredam 50% intensitas serapan radikal bebas (Mulja dan Suharman, 1995).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, didukung kandungan metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas antioksidan serta belum adanya kajian aktivitas antioksidan pada ekstrak maupun fraksinasi dari limbah daun ketapang, maka penulis melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl)”.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Apa saja senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)?
2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap radikal bebas DPPH?

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)?
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap radikal bebas DPPH?

Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi mengenai manfaat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) untuk kesehatan.
2. Mendukung pengembangan antioksidan dari bahan alam.

BAB II

DESKRIPSI TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

1. Ketapang

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman ketapang tertuang dalam susunan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Family : Combretaceae
Genus : Terminalia
Species : *Terminalia catappa* L.

(Tjitrosoepomo, 2001)

b. Tempat Tumbuh

Pohon ketapang banyak tumbuh di daerah pantai hingga di ketinggian 800 mdpl (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

c. Morfologi

Terminalia catappa L. memiliki akar tunggang (*radix primaria*) sehingga masuk kedalam kategori tumbuhan dikotil. Batang *Terminalia catappa* L. bersifat (*lignosus*), yaitu batangnya sangat keras dan kuat serta berbentuk bulat (*teres*), permukaannya beralur

(*sulcatus*). Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki ujung daun dan pangkal daun meruncing, tepi daun yang rata, daging daun tipis lunak dan pertulangan menyirip. Bunga *Terminalia catappa* L. memiliki ukuran kecil, berwarna kuning, dan berkumpul dalam bulir yang berada didekat ujung ranting dengan panjang 8-25 cm. Buah ketapang memiliki permukaan luar yang licin dan berwarna hijau. Warna buah ketapang berubah menjadi merah kecoklatan ketika sudah tua. Biji *Terminalia catappa* L. memiliki tekstur keras seperti kayu yang berfungsi untuk melindungi biji yang ada di dalamnya (Tjitrosoepomo, 2001).

d. Kandungan Kimia

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid, resin, dan saponin (Tjitrosoepomo, 2002). Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun ketapang yaitu flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin katekat, tanin galat (Sukandar dkk, 2006) sedangkan daun gugur ketapang mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid (Nuria dkk, 2014). Buah ketapang memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, saponin dan steroid (Istarina dkk, 2015). Kulit batang ketapang mengandung flavonoid, fenolat dan terpenoid (Zuhrotun dkk, 2010).

e. Manfaat

Menurut Harborne (1987), ekstrak daun ketapang berkhasiat untuk mengobati sakit pinggang, terkilir, diare, dan menurunkan tekanan darah tinggi. Daun ketapang juga dapat digunakan untuk kecantikan karena mengandung antioksidan.

2. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia menggunakan pelarut cair untuk memisahkan senyawa yang larut dan senyawa yang tidak larut (Dirjen POM, 2000). Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin antara lain:

a. Maserasi

Pada cara maserasi, ekstraksi menggunakan pelarut dengan pengadukan yang terus-menerus pada temperatur ruangan (kamar). Lalu dilakukan penyaringan, dan ramaserasi, yaitu pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Dirjen POM, 2000).

b. Perkolasi

Pada cara perkolasi, ekstraksi dilakukan pada suhu kamar menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna. Proses perkolasi terdiri dari tahap

pengembangan bahan, maserasi antara dan perkolasi yang sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), proses ini dilakukan secara terus menerus hingga diperoleh ekstrak (perklorat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Dirjen POM, 2000).

Pada ekstraksi cara panas, ekstraksi dilakukan pada suhu yang tinggi. Berikut adalah ekstraksi cara panas:

a. Refluks

Pada cara refluks, ekstraksi dilakukan pada titik didih pelarut dengan adanya pendingin balik. Umumnya proses dilakukan 3-5 kali seterusnya (Dirjen POM, 2000).

b. Soxhlet

Soxhlet dilakukan dengan alat khusus menggunakan pelarut yang selalu baru sehingga ekstraksi terjadi secara terus-menerus dengan jumlah pelarut yang konstan dan adanya pendingin balik seterusnya (Dirjen POM, 2000).

c. Digesti

Digesti dilakukan dengan pengadukan continue pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), umumnya dilakukan pada temperatur 40-50°C seterusnya (Dirjen POM, 2000).

d. Infus

Pada cara infus, ekstraksi menggunakan pelarut air, dimana bejana infus tercelup dalam penangas air

mendidih dengan temperatur 96-98°C selama 15-20 menit (Dirjen POM, 2000).

e. Dekok

Dekok adalah ekstraksi cara infus dengan waktu yang lebih lama dan temperaturnya mencapai titik didih air seterusnya (Dirjen POM, 2000).

3. Fraksinasi

Metode pemisahan yang dapat digunakan untuk tingkat makro dan mikro salah satunya adalah fraksinasi (Harborne, 2006). Metode yang dipilih dalam penelitian ini yaitu fraksinasi cair-cair.

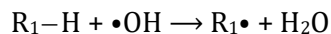
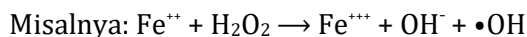
Fraksinasi cair-cair yaitu metode pemisahan menggunakan dua pelarut dengan sifat kepolaran yang berbeda (Harborne, 2006). Fraksinasi dilakukan berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, yaitu dari nonpolar, semipolar, dan polar. Proses fraksinasi berlaku prinsip like dissolve like, yang artinya nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar, semipolar akan larut dalam pelarut semipolar dan polar akan larut dalam pelarut polar (Harborne, 1987).

4. Radikal Bebas

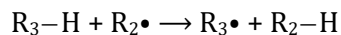
Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai setiap spesies yang mampu berada secara independen dan memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan (*unpaired electrone*), yaitu elektron yang sendirian dalam orbital. Adanya satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan menyebabkan spesies tersebut menjadi paramagnetik dan sering menjadikan sangat reaktif (Santoso, 2017). Yang dimaksud reaktivitas radikal bebas yaitu usaha untuk menemukan pasangan elektron. Adanya kerja dari radikal bebas menyebabkan munculnya radikal baru (Winarsi, 2007).

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas, yaitu melalui 3 tahapan reaksi sebagai berikut (Musarofah, 2015).

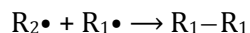
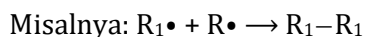
a. Tahapan inisiasi, yaitu awal pembentukan radikal bebas.

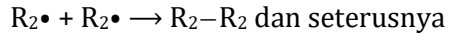


b. Tahap propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal



c. Tahap terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.





Menurut sumbernya, radikal bebas dibagi menjadi endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen merupakan radikal bebas yang dihasilkan dari dalam tubuh, seperti metabolisme sel normal, respirasi, peradangan, dan kekurangan gizi. Sedangkan radikal bebas eksogen merupakan radikal bebas yang dihasilkan dari luar tubuh atau aktivitas lingkungan, seperti asap rokok, kebakaran hutan, limbah pabrik, asap kendaraan, pendingin ruangan, sinar X, sinar UV, aktivitas vulkanik, dan sinar gamma (Musarofah, 2015).

5. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau memperlambat proses oksidasi. Cara kerja antioksidan yaitu mendonorkan elektron pada senyawa yang bersifat oksidan, yaitu dengan cara pengikatan oksigen dan pelepasan hidrogen (Musarofah, 2015).

Antioksidan dibedakan menjadi antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Contoh dari antioksidan enzimatis yaitu enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px). Sedangkan contoh dari antioksidan non-enzimatis yaitu flavonoid, tanin, vitamin C, vitamin E dan sebagainya (Musarofah, 2015).

Menurut mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan primer, sekunder dan tersier (Musarofah, 2015).

a. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas baru sebelum sempat bereaksi. Antioksidan jenis ini biasa juga disebut antioksidan enzimatis. Enzim ini berperan penting untuk mencegah rusaknya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Enzim ini bekerja dipengaruhi oleh mineral-mineral seperti (Mn), (Zn), (Cu) dan (Se) yang ada pada makanan dan minuman. Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yaitu enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH-Px) (Musarofah, 2015).

b. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan mampu mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non-enzimatis. Antioksidan non-enzimatis meliputi flavonoid, tanin, vitamin C, vitamin E dan sebagainya (Musarofah, 2015).

c. Antioksidan Tersier

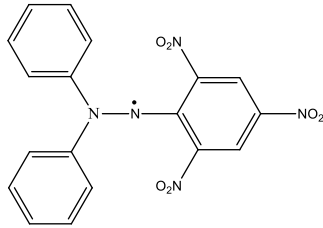
Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang mampu memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak

karena serangan radikal bebas. Yang termasuk antioksidan tersier adalah antioksidan jenis enzim, misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang berfungsi untuk memperbaiki DNA dalam inti sel (Musarofah, 2015).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Contoh antioksidan sintetis yang diizinkan dalam penggunaannya yaitu BHA, BHT, TBHQ, dan tokoferol. Sedangkan contoh antioksidan alami yaitu senyawa flavonoid, tanin, vitamin C, vitamin E dan sebagainya (Musarofah, 2015).

6. Metode Penangkal Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak dapat diuji dengan mengukur daya tangkap terhadap radikal bebas (*radical scavenging activity*) menggunakan radikal sintetis *1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl* (DPPH) (Santoso, 2017). *1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl* (DPPH) merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil karena adanya delokalisasi elektron (Molyneux, 2003). Absorbansi maksimal DPPH berada diantara panjang gelombang 515-517 nm (Santoso, 2017). Struktur DPPH dapat dilihat seperti gambar 2.1 dibawah ini:



Gambar 2.1 Struktur DPPH (Santoso, 2017).

Pengukuran kekuatan antioksidan didasarkan pada penurunan absorbansi larutan saat diuji pada panjang gelombang maksimum (Abdulkadir, 2013). Parameter yang digunakan dalam metode DPPH yaitu IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat meredam 50% intensitas serapan radikal bebas (Mulja dan Suharman, 1995).

Persentase Penghambatan Senyawa Radikal Bebas DPPH dapat dirumuskan sebagai berikut:

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

Keterangan:

Ab = absorbansi blanko DPPH

As = absorbansi senyawa uji

(Fitriana dkk, 2015)

Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan diplot masing-masing pada sumbu x (konsentrasi sampel) dan y (%I) pada persamaan regresi linear. Nilai IC_{50} yang terkecil memiliki

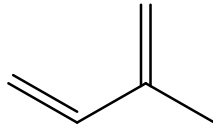
aktivitas antioksidan yang tinggi. Dikategorikan aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat ($IC_{50} > 50$ ppm-100 ppm), sedang ($IC_{50} > 100$ ppm-150 ppm), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm) (Sari dan Putra, 2018).

7. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan *product* metabolisme yang dibiosintesis dari metabolit primer dengan jalur metabolisme yang berbeda. Fungsi utama metabolit sekunder yaitu sebagai senyawa dalam mekanisme pertahanan atau keberlangsungan hidup organisme terhadap kondisi lingkungannya (Raharjo, 2013) Metabolit sekunder dikelompokkan menjadi 3 golongan (Kabera *et al.*, 2017), yaitu:

a. Terpenoid

Terpenoid atau isoprenoid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan struktur dasar isoprene. Terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isoprena (C_5), yaitu hemiterpena (C_5), monoterpena (C_{10}), seskuiterpena (C_{15}), diterpena (C_{20}), sesterpena (C_{25}), triterpena (C_{30}), tetraterpena (C_{40}), dan politerpena (lebih dari 8 unit isoprena) (Raharjo, 2013). Berikut gambar 2.2 struktur isoprena:



Gambar 2.2 Struktur Isoprena (Raharjo, 2013)

Triterpenoid tersusun dari 6 unit isoprena. Triterpenoid dibentuk melalui penggabungan ekor-ekor FDP menghasilkan squalena (Raharjo, 2013). Triterpenoid pada umumnya berupa golongan aldehid, alkohol dan asam karboksilat. Fungsi triterpenoid yaitu sebagai antimikroba (Harborne, 2006).

Steroid merupakan triterpena yang memiliki kerangka dasar berupa sistem cincin siklopentana perhidrofenantrena (Harborne, 2006). Kelompok steroid meliputi hormon, vitamin, saponin dan glikosida lain (Raharjo, 2013).

Saponin merupakan salah satu golongan glikosida triterpenoid atau steroid (Verma dan Shukla, 2015). Saponin merupakan glikosida yang mempunyai sifat fisik seperti surfaktan sehingga mampu membentuk busa walaupun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Salah satu contoh senyawa triterpenoid saponin adalah asam glisirizenat yang merupakan glikosida asam glisiretat dengan gula disakarida asam glukoronat (Raharjo, 2013).

Saponin berfungsi sebagai antioksidan, insektisida dan antimikroba (Kabera *et al.*, 2014).

b. Fenolik

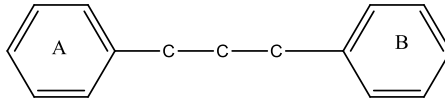
Senyawa fenolik termasuk kedalam salah satu kelompok metabolit sekunder terbesar pada tanaman, yang memiliki gugus fenol pada strukturnya (Verma dan Shukla, 2015). Senyawa fenolik yang memiliki lebih dari satu gugus fenol biasa disebut polifenol. Senyawa polifenol dibedakan menjadi flavonoid dan tanin. Senyawa ini dicirikan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, dan dapat melindungi dari stres oksidatif dan beberapa penyakit (Kabera *et al.*, 2014).

1) Flavonoid

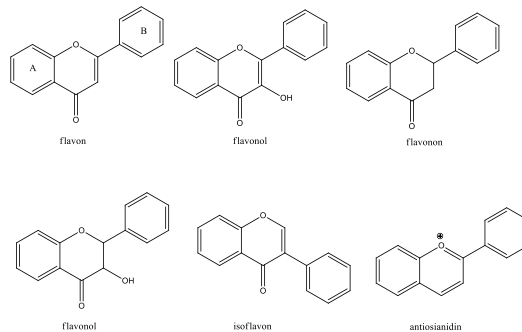
Flavonoid termasuk kedalam kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Flavonoid ditemukan pada buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang, dan bunga. Senyawa-senyawa flavonoid berfungsi sebagai zat warna pada tanaman (Raharjo, 2013).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang memiliki C_{15} terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga karbon (Sastrohamidjojo, 1996). Berdasarkan kerangka karbon struktur senyawa flavonoid dibagi menjadi enam sub kelompok utama yaitu flavon, flavonol, flavanon,

flavanol, isoflavon dan antiosianidin (Raharjo, 2013). Senyawa flavonoid memiliki beberapa aktivitas diantaranya yaitu antioksidan, antiinflamasi, antihepatotoksik, antitumor, antimikrobal, antiviral, dan pengaruh terhadap sistem syaraf pusat (Raharjo, 2013). Berikut gambar 2.3 kerangka dasar flavonoid dan gambar 2.4 struktur umum kelompok utama senyawa flavonoid:



Gambar 2.3 Kerangka Dasar Flavonoid (Sastrohamidjojo, 1996)

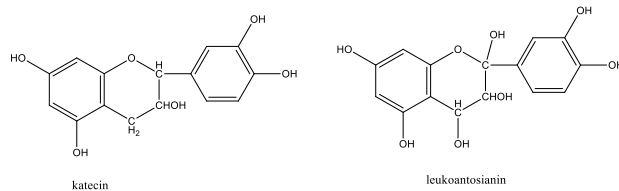


Gambar 2.4 Struktur Umum Kelompok Utama Senyawa Flavonoid(Raharjo, 2013)

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang mampu larut dalam air. Tanin bisa menjadi

kompleks dengan mineral, selulosa, protein dan pati (Kabera *et al.*, 2014). Tanin dibedakan menjadi *hidrolyzable tannin* dan *condensed tannin*. *Hidrolyzable tannin* merupakan tanin yang mampu terhidrolisis oleh asam, basa, atau enzim yang mampu menghasilkan gula, asam galat dan asam yang lain. Sedangkan *condensed tannin* merupakan tanin yang memiliki bentuk struktur yang kompleks, contohnya katecin dan leukoantosianin (Muchtadi dan Sugiyono, 2014). Tanin dapat berperan sebagai antiinflamasi dan antidiare (Kabera *et al.*, 2014).

Berikut struktur katecin dan leukoantosianin pada gambar 2.5 dibawah ini:



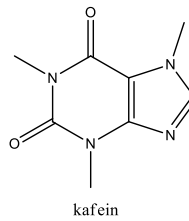
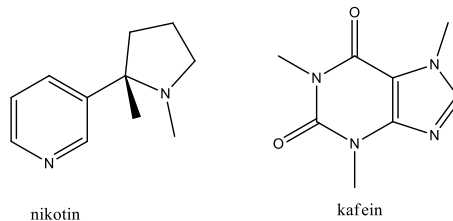
Gambar 2.5 Struktur Katecin dan Leukoantosianin (Raharjo, 2013)

c. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik siklik yang mengandung atom N dengan tingkat oksidasi negatif dan bersifat alkali (Raharjo, 2013). Alkaloid diproduksi berbagai macam organisme, seperti bakteri, jamur, binatang tetapi kebanyakan diproduksi tanaman sebagai

metabolit sekunder (Kabera *et al.*, 2014). Senyawa alkaloid memiliki fungsi untuk menjaga keberlangsungan hidup tanaman. Pada umumnya alkaloid memiliki rasa pahit sehingga tanaman ini aman dari konsumsi hewan herbivora (Raharjo, 2013).

Aktivitas farmakologis dimiliki oleh alkaloid, diantaranya sebagai antibakteri, analgesik, antiinflamasi, antifungi, antidiabetes, dan antikanker. Beberapa senyawa alkaloid yang ada pada tanaman yaitu nikotin dan kafein (Kabera *et al.*, 2014), seperti gambar 2.6 dibawah ini:



Gambar 2.6 Struktur Nikotin dan Kafein (Raharjo, 2013)

8. Spektrofotometri UV-Vis

a. Teori Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis berdasarkan hukum Lambert-Beer, bila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan) maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi

dipancarkan (Panji, 2012). Penjabaran hukum Lambert-Beer menghasilkan persamaan:

$$\log \frac{I_0}{I} = kcb = A$$

Keterangan:

I_0, I = intensitas sinar awal, yang diteruskan

c = konsentrasi

b = tebal lapisan yang menyerap (tebal sel)

k = konstanta

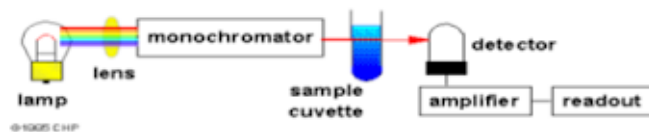
A = serapan (absorban)

(Panji, 2012).

Syarat-syarat hukum Lambert-Beer diantaranya yaitu cahaya bersifat monokromatik, tidak menimbulkan reaksi kimia, sampel harus homogen (Panji, 2012).

b. Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis

Instrumentasi spektrofotometri UV-Vis terdiri dari empat komponen yaitu sumber radiasi, monokromator, kuvet dan detektor. Secara umum rangkaian instrumentasi UV-Vis dapat dilihat pada gambar 2.7



Gambar 2.7 Rangkaian Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2015)

1) Sumber Sinar

Menurut Gandjar dan Rohman (2015), syarat sumber sinar yang ideal pada suatu instrumen spektrofotometer UV-Vis adalah:

- a) Mampu mencakup semua kisaran pengukuran di daerah UV-Vis.
- b) Mempunyai intensitas sinar yang kuat dan stabil pada keseluruhan kisaran panjang gelombang
- c) Intensitas sumber sinar tidak boleh bervariasi secara signifikan pada panjang gelombang yang berbeda
- d) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang lama
- e) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang singkat.

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV yaitu berada pada panjang gelombang 200-370 nm. Sedangkan untuk lampu tungsten digunakan untuk daerah visible yaitu berada pada panjang gelombang 350-2.000 nm

2) Monokromator

Sinar yang digunakan harus bersifat monokromatik, yaitu sinar pada suatu gelombang tertentu. Hal ini dapat dicapai dengan melewati sinar polikromatik, yakni sinar dengan beberapa

panjang gelombang, melalui suatu monokromator. Ada dua jenis monokromator yaitu prisma dan kisi difraksi. Monokromator terdiri atas elemen pendispersi, suatu celah masuk (*entrance slit*), dan celah keluar (*exit slit*). Fungsi elemen pendispersi adalah untuk mendispersikan radiasi yang jatuh kepadanya sesuai dengan panjang gelombang (Gandjar dan Rohman, 2015).

3) Kuvet

Kuvet adalah wadah sampel. Pada pengukuran di daerah UV kuvet yang digunakan berbahan kuasa atau silika lebur. Sedangkan untuk daerah visible kuvet yang digunakan berbahan gelas corex atau gelas borosilikat (Gandjar dan Rohman, 2015).

4) Detektor

Detektor digunakan untuk mengukur intensitas radiasi yang mengenainya. Detektor pada umumnya berupa kepingan elektronik yang berfungsi untuk mengubah intensitas berkas sinar kedalam sinyal elektrik, dan berfungsi juga sebagai pengganda (*amplifier*) untuk meningkatkan kekuatan sinyal (Gandjar dan Rohman, 2015).

B. Kajian Pustaka

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid, resin, dan saponin (Tjitrosoepomo, 2002). Senyawa fenolik dalam ketapang memiliki potensi salah satunya adalah antioksidan (Kumar *et.al*, 2017). Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Abdulkadir (2015) yang dimuat dalam jurnal “In Vitro Antioxidant Activity of Ethanolic Extract from *Terminalia catappa* (L.) Leaves and Fruits: Effect of Fruit Ripening” Vol 04 Issue 8, melaporkan bahwa ekstrak etanol daun, buah matang, dan buah mentah *Terminalia catappa* (L.) mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ 43.34 ppm, 95.99 ppm dan 211.06 ppm. Ekstrak etanol daun *Terminalia catappa* (L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada buahnya (Abdulkadir, 2015).

Aktivitas antioksidan juga dilaporkan pada genus *Terminalia* lainnya. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Chandel *et.al* (2019) yang dimuat dalam jurnal “Sequential Fractionation by Organic Solvents Enhances the Antioxidant and Antibacterial Activity of Ethanolic Extracts of Fruits and Leaves of *Terminalia bellerica* from North Western Himalayas, India” Vol 11, Issue 1, melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Terminalia bellerica* beserta fraksinasi kloroform, etil asetat, n-butanol dan air mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai 7,16 ppm; 20,41 ppm; 6,44 ppm; 7,58

ppm; dan 41,18 ppm. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (Chandel *et.al*, 2019).

Pemanfaatan limbah organik selain diolah menjadi kompos juga dapat digunakan untuk bidang kesehatan. Salah satunya adalah antioksidan. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Munir *et.al* (2018) yang dimuat dalam jurnal "Evaluation of Antioxidant Potential of Vegetables Waste" Vol. 27, No.2 melaporkan bahwa aktivitas antioksidan limbah sayur dalam 80% metanol dan 80% ekstrak etanol berkisar 43,98-57,37% dan 47,28-61,13%. Limbah sayur memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Munir *et.al*, 2018).

Penelitian mengenai pemanfaatan limbah organik sebagai antioksidan juga dilakukan pada limbah tanaman lainnya. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Kuppusamy *et.al* (2015) yang dimuat dalam jurnal "Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts" melaporkan bahwa secara umum mayoritas ekstrak limbah daun menunjukkan jumlah senyawa fenolik yang lebih besar bila dibandingkan dengan bagian tanaman yang lain. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak limbah daun *Melaleuca diosmifolia* dengan penghambatan DPPH sebesar 90% (Kuppusamy *et.al*, 2015).

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dipaparkan, didukung dengan kandungan senyawa metabolit sekunder

pada kelompok *Terminalia catappa* L., genus *Terminalia* dan limbah organik yang memiliki potensi aktivitas antioksidan serta belum adanya kajian aktivitas antioksidan pada ekstrak maupun fraksinasi dari limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), maka penulis melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) menggunakan metode DPPH. Dengan demikian fraksi etil asetat dari limbah daun ketapang diduga juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi antioksidan. Aktivitas antioksidan yang dimiliki fraksi etil asetat limbah daun ketapang juga diharapkan lebih aman dan lebih efektif daripada obat antioksidan yang sudah ada.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: pisau, blender, neraca analitik, toples kaca, gelas beker, kertas saring, tabung reaksi, corong pisah, *vacum rotary evaporator*, dan UV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: limbah daun ketapang, etanol, n-heksan, etil asetat, n-butanol, aquades, HCl, Pb asetat, asam asetat anhidrat, asam sulfat, FeCl₃ 1%, pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, HCl 2 N, DPPH, asam askorbat, dan kuersetin.

B. Prosedur Kerja

1. Persiapan Simplisia

Limbah daun ketapang yang masih kuning 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, et al. 2012).

2. Ekstraksi

Sebanyak 1 kg sampel dimaserasi menggunakan 4 liter pelarut etanol . Diamkan selama 24 jam. Hasil maserat pertama disaring, kemudian residu dilakukan remaserasi sebanyak 4 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 (Do et al,2014).

3. Fraksinasi

Metode fraksinasi yang dipilih pada penelitian ini yaitu partisi cair-cair dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak etanol yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya, yaitu: n-heksan dan etil asetat (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. Selanjutnya didiamkan sampai muncul dua lapisan. Lapisan air (lapisan bagian bawah) dipisahkan dengan lapisan fraksi heksana (lapisan bagian atas). Lapisan air

direfraksinasi sebanyak 3 kali dengan jumlah pelarut yang sama (Madikiela dkk, 2014; Sofawati, 2012).

Lapisan air difraksinasi lagi dengan pelarut etil asetatetil asetat. Sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan lapisan air. Selanjutnya fraksi etil asetat diuapkan pelarutnya menggunakan *vacum rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi etil asetat yang kental. Fraksi etil asetat selanjutnya ditimbang dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C (Madikiela dkk, 2014; Sofawati, 2012).

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 ± 1 cm selama kurang lebih 20 menit (Kumoro, 2015).

d. Steroid dan Triterpenoid

1 ml 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

1 ml ekstrak simplisia ditambahkan dengan 3 tetes 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 FeCl_3 1%. Adanya tanin (*cathechic tanin*) ditandai dengan terbentuknya warna biru-hijau, sedangkan adanya tanin (*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

DPPH ditimbang sebanyak 2,4 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 ml etanol p.a., sehingga konsentrasi DPPH diperoleh sebesar 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 0,25 ppm; 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; 1,25 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

Kuersetin ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan kedalam 10 ml etanol p.a., sehingga konsentrasi kuersetin diperoleh sebesar 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 Asam Askorbat

Asam askorbat ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan kedalam 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.

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.

C. Teknik Analisis Data

1. Persentase Penghambatan Senyawa Radikal Bebas DPPH

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

Keterangan:

A_b = absorbansi blanko DPPH

A_s = absorbansi senyawa uji

(Fitriana dkk, 2015)

2. Penentuan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC_{50})

Konsentrasi sampel uji (x) dan persentase penghambatan (y) diplotkan pada persamaan regresi linear (Huliselan dkk, 2015).

Bentuk persamaannya adalah:

$$y = ax + b$$

Nilai IC_{50} merupakan nilai x pada persamaan tersebut. Nilai y bisa diisi dengan angka 50 karena yang dicari adalah penghambatan 50%, kemudian nilai a dan b diperoleh dari hasil pengeplotan x terhadap y .

BAB IV

DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

A. Deskripsi Data

1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak etanol kental yang diperoleh dari penelitian ini yaitu sebesar 109,32 gram dengan rendemen sebesar 10,9%. Sedangkan untuk proses fraksinasi dihasilkan fraksi etil asetat limbah daun ketapang sebesar 8,06 gram dengan rendemen 7,37%.

2. Uji Fitokimia

Fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan tanin. Hasil uji fitokimia tersebut disajikan dalam tabel 4.1 berikut:

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenol	+
Tanin	+

Keterangan:

(+) = mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

3. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Untuk mengetahui panjang gelombang maksimal larutan DPPH, larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 505 - 530 nm. Berdasarkan dengan hasil pengukuran yang telah dilakukan, absorbansi maksimal larutan DPPH diperoleh sebesar 0,974 dan terletak pada panjang gelombang 517 nm.

b. Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang

Absorbansi larutan fraksi etil asetat limbah daun ketapang diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan konsentrasi 0,25 ppm; 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; 1,25 ppm; dan 1,5 ppm. Nilai absorbansi dari setiap konsentrasi fraksi etil asetat diperlukan guna memperoleh persentase penghambatan (%I) fraksi etil asetat limbah daun ketapang terhadap DPPH.

Tabel 4.2 Persentase Penghambatan DPPH Oleh Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

[FEA] (ppm)	%I rata-rata±SD
0,25	49,4 ± 0,19
0,5	50,4 ± 0,22
0,75	51,6 ± 0,25
1	53,4 ± 0,19
1,25	54,5 ± 0,09
1,5	55,5 ± 0,28

Keterangan:

[FEA] = Konsentrasi fraksi etil asetat (ppm)

%I = Persentase penghambatan

c. Uji Antioksidan Senyawa Perbandingan

Berdasarkan dengan hasil pengukuran absorbansi yang telah ditentukan pada panjang gelombang 517 nm, maka diperoleh persentase penghambatan DPPH oleh asam askorbat dan kuersetin yaitu sebagai berikut:

Tabel 4.3 Persentase Penghambatan DPPH Oleh Asam Askorbat

[AA] (ppm)	%I rata-rata±SD
0,03125	47,4 ± 0,40
0,0625	48,4 ± 0,24
0,125	49,4 ± 0,18
0,25	50,5 ± 0,26
0,5	52,2 ± 0,25
1	57,5 ± 0,21

Keterangan:

[AA] = Konsentrasi asam askorbat (ppm)

%I = Persentase penghambatan

Tabel 4.4 Persentase Penghambatan DPPH Oleh Kuersetin

[K] (ppm)	%I rata-rata±SD
0,03125	48,7 ± 0,12
0,0625	49,4 ± 0,33
0,125	50,6 ± 0,21
0,25	51,7 ± 0,30
0,5	53,3 ± 0,22
1	57,3 ± 0,29

Keterangan:

[K] = Konsentrasi kuersetin (ppm)

%I = Persentase penghambatan

B. Analisis Data

1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel yang digunakan merupakan limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang masih berwarna kuning dan didapatkan dari sekitaran lingkungan Dekanat Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang. Limbah daun yang digunakan adalah limbah daun yang masih berwarna kuning. Simplisia serbuk kering yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 1 kg. Simplisia dilakukan maserasi selama 1x24 jam menggunakan 4 L etanol sebanyak 4 kali pengulangan ekstrak etanol kemudian dihilangkan pelarutnya dengan *vacuum rotary evaporator*.

Metode maserasi dipilih karena metode ini dilakukan tanpa adanya pemanasan sehingga mencegah adanya kerusakan pada senyawa metabolit yang sensitif. Selain itu metode maserasi juga dipilih karena sampel yang digunakan tidak harus dalam bentuk serbuk halus dan juga kehilangan alkoholnya sangat sedikit (Kumoro, 2015). Etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut polar sehingga dapat mengekstrak secara maksimal senyawa metabolit sekunder yang mayoritas juga bersifat polar (Samuelsson, 1999). Simplisia dijadikan dalam bentuk serbuk tujuannya adalah untuk memperluas permukaan sehingga proses ekstraksi bisa maksimal dan waktu ekstraksipun menjadi lebih cepat. Maserat yang diperoleh ditampung dan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan putaran 70 rpm. Vakum digunakan agar pelarut dapat menguap pada suhu yang rendah dan mencegah adanya senyawa metabolit sekunder yang rusak (Devi dan Erwin, 2015). Selanjutnya ekstrak etanol yang sudah mengental ditimbang untuk menghitung rendemen. Ekstrak kental etanol yang dihasilkan yaitu sebesar 109,32 gram dengan rendemen sebesar 10,932%.

Ekstrak etanol yang diperoleh dilanjutkan dengan proses fraksinasi menggunakan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang semakin meningkat. Tujuannya yaitu untuk memisahkan senyawa yang kurang diinginkan. Metode

yang dipilih pada proses fraksinasi yaitu partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak kental etanol sebelum difraksinasi disuspensi kedalam air:etanol (9:1). Fraksinasi dilakukan dengan pelarut n-heksan yang bersifat non polar. Bagian yang polar seperti fenol dan flavonoid akan tersari ke air sedangkan bagian non polar seperti lipid dan klorofil akan tersari ke n-heksan. Fraksi air akan berada pada bagian bawah sedangkan fraksi n-heksan akan berada di bagian atas. Hal tersebut dikarenakan massa jenis air (1 g/ml) lebih besar daripada massa jenis n-heksan (0,6548 g/ml).

Fraksi air yang telah dipisahkan dari fraksi n-heksan selanjutnya difraksinasi menggunakan etil asetat yang kepolarannya berada diantara air dan n-heksan. Tahapan fraksinasi menggunakan etil asetat-air sama seperti tahapan fraksinasi n-heksan-air. Pada fraksinasi air dengan etil asetat, fraksi air juga akan berada pada bagian bawah karena massa jenis air (1 g/ml) lebih besar dibandingkan etil asetat (0,903 g/ml). Setelah proses fraksinasi selesai, didapatkan fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat selanjutnya diuapkan menggunakan batuan *vacuum rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarutnya. Fraksi etil asetat kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan diperoleh 8,06 g. Selanjutnya fraksi etil asetat kental disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

2. Uji Fitokimia

Berdasarkan dengan hasil uji fitokimia, fraksi etil asetat limbah daun ketapang positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan tanin. Sedangkan untuk senyawa saponin dan triterpenoid menunjukkan hasil negatif.

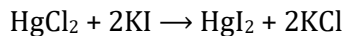
a. Alkaloid

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan dengan dua pereaksi yaitu pereaksi mayer dan pereaksi dragendroff. alkaloid dikatakan positif apabila terdapat endapan kuning saat direkasikan dengan pereaksi mayer dan terdapat endapan jingga hingga merah saat direaksikan dengan pereaksi dragendroff. Langkah awal untuk pengujian alkaloid yaitu memasukkan sebanyak 1 ml fraksi etil asetat limbah daun ketapang kedalam 2 tabung reaksi. Selanjutnya masing-masing ditambahkan pereaksi mayer dan pereaksi dragendroff. Hasil yang diperoleh yaitu fraksi etil asetat limbah daun ketapang positif mengandung senyawa alkaloid karena terdapat endapan kuning dan endapan jingga.

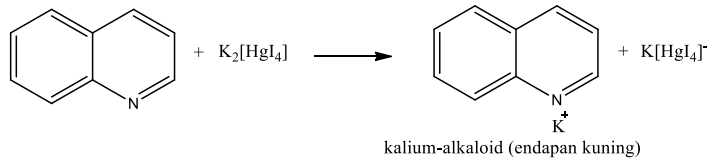
Prinsip pada uji alkaloid ini yaitu adanya pergantian ligan sehingga terbentuklah endapan. Pasangan elektron pada atom nitrogen dapat mengganti ion iodo pada pereaksi. Pereaksi dragendroff mengandung bismut nitrat dan kalium

iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat (III)). Sedangkan pereaksi mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida (kalium tetraiodomerkurat (II)) (Sangi dkk, 2013).

Alkaloid saat direaksikan dengan pereaksi mayer akan terbentuk endapan kuning apabila positif. Endapan kuning diduga adalah senyawa kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi mayer, larutan merkuri (II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk endapan merah merkuri (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II) (Svehla, 1985). Alkaloid memiliki atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas sehingga dapat terbentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Sangi dkk, 2013). Pada uji alkaloid dengan pereaksi mayer, diduga nitrogen yang ada dalam alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk endapan senyawa kompleks kalium-alkaloid. Reaksi yang terjadi pada uji mayer ditunjukkan pada gambar 4.1.

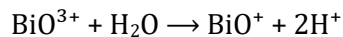


Kalium tetraiodomerkurat (II)



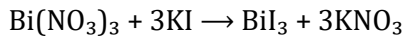
Gambar 4.1 Reaksi Uji Mayer (Marliana dkk, 2005)

Alkaloid saat direaksikan dengan pereaksi dragendroff akan terbentuk endapan jingga hingga merah apabila positif. Endapan jingga atau merah diduga adalah senyawa kompleks kalium-alkaloid.. Pada pembuatan pereaksi dragendroff, bismut nitrat dilarutkan kedalam HCl tujuannya untuk mencegah terjadinya reaksi hidrolisis karena garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), reaksinya adalah sebagai berikut:

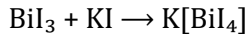


Penambahan asam pada pembuatan pereaksi dragendroff dilakukan agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan dan kesetimbangan akan bergeser kearah kiri. Ion Bi^{3+} dari bismut nitrat akan bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam bismut (III) iodida yang kemudian larut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1985). Pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen

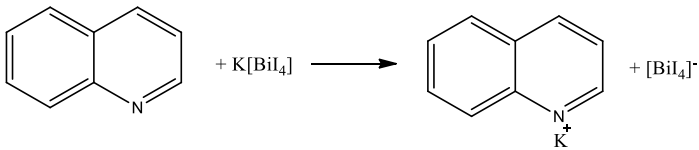
koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji dragendroff ditunjukkan pada gambar 4.2.



Coklat



Kalium tetraiodobismutat



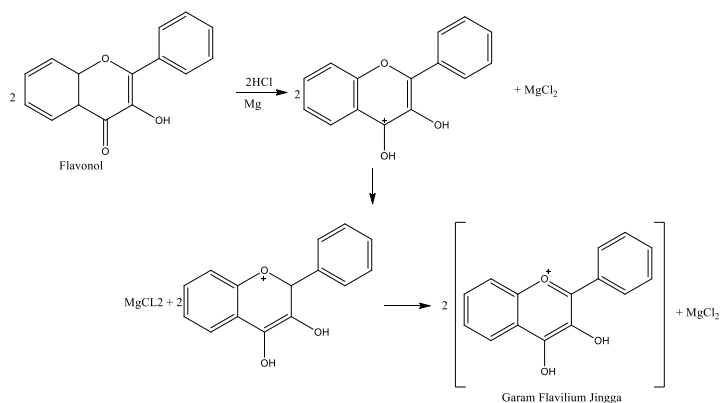
Gambar 4.2 Reaksi Uji Dragendroff (Marliana dkk, 2005)

b. Flavonoid

Pengujian senyawa flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan sebanyak 1 ml fraksi etil asetat limbah daun ketapang kedalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan serbuk magnesium dan HCl. Hasil yang didapatkan dalam pengujian ini yaitu fraksi etil asetat limbah daun ketapang positif mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya larutan berwarna jingga.

Tujuan penambahan serbuk Mg dan HCl pada metode uji shinoda yaitu untuk mereduksi inti benzopiron agar terbentuk garam flavilium yang berwarna jingga atau merah. Flavonoid merupakan

senyawa metabolit sekunder yang memiliki dua cincin aromatik dan gugus hidroksil yang lebih dari satu. Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl terlihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Reaksi Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl (Septyaningsih, 2010).

c. Saponin

Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml etanol kedalam 1 ml fraksi etil asetat kemudian ditambahkan 20 ml dan dikocok selama 15 menit. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi ± 1 cm selama kurang lebih 20 menit. Uji saponin menunjukkan hasil negatif dikarenakan busa yang terbentuk setelah 15 menit sudah hilang. saponin bersifat nonpolar karena mengandung gugus steroid dan triterpenoid serta bersifat polar karena mengandung glikosil (Sangi dkk,

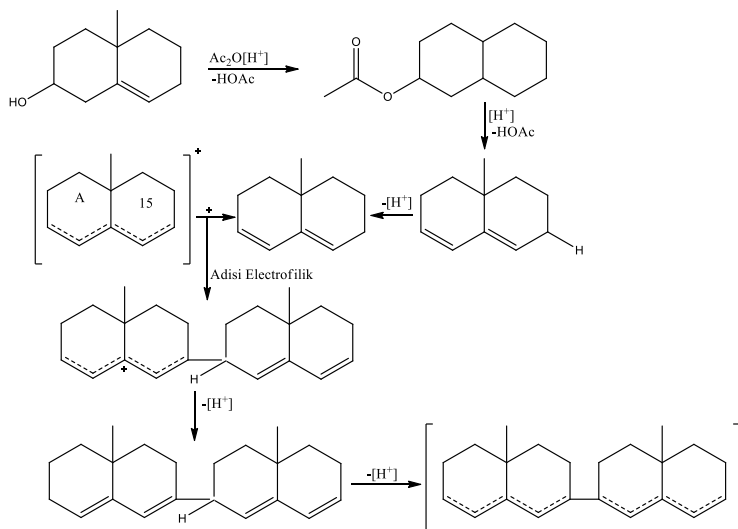
2008) sehingga saponin tidak bisa terekstrak pada pelarut etil asetat yang bersifat semipolar.

d. Steroid dan Triterpenoid

Pengujian senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan cara menambahkan asam asetat anhidrat kedalam 1 ml sampel, kemudian dididihkan, didinginkan dan ditambahkan asam sulfat. Hasil yang didapatkan dalam pengujian ini yaitu fraksi etil asetat limbah daun ketapang positif mengandung senyawa steroid dengan terbentuknya cincin berwarna coklat.

Prinsip dalam uji steroid/triterpenoid yaitu kondensasi (pelepasan H₂O) serta penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofil, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin kecoklatan

(Setyowati dkk, 2014). Reaksi yang terjadi pada uji steroid/triterpenoid ditunjukkan pada gambar 4.4.

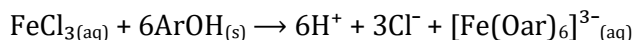


Gambar 4.4 Reaksi Uji Steroid/Triterpenoid (Marliana dkk, 2005)

e. Fenol

Pengujian senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 1% kedalam 1 ml fraksi etil asetat. Hasil yang didapatkan yaitu terbentuk warna hitam kebiruan. Fenolik bereaksi dengan FeCl_3 1% membentuk warna merah, ungu, biru, atau hitam yang pekat karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis (Haryati dkk, 2015). Larutan berwarna diduga sebagai senyawa kompleks besi (III) heksafenolat. Ion Fe^{3+} mengalami hibridisasi orbital d^2sp^3 sehingga ion Fe^{3+} ($4s^03d^5$) memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh

pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan elektron bebas (Marliana dan Saleh, 2011). Reaksi pada uji fenol adalah sebagai berikut:

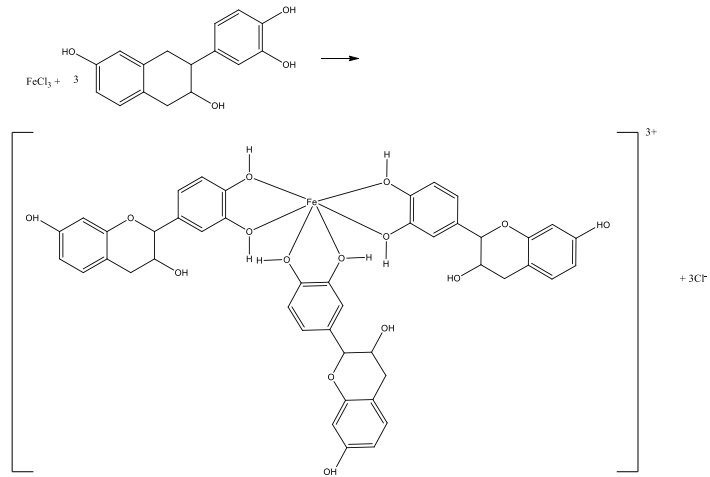


f. Tanin

Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada fraksi etil asetat limbah daun ketapang yaitu mengambil 1 ml fraksi etil asetat ditambahkan 2 ml akuades kemudian ditambahkan FeCl_3 1%. Hasil yang didapatkan yaitu terbentuk warna biru kehitaman.

Penggunaan FeCl_3 pada uji tanin bertujuan untuk mendeteksi adanya gugus fenol. Positif mengandung gugus fenol ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh (Harborne, 1987) cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan FeCl_3 1% dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna

hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} , seperti yang terlihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Reaksi antara Tanin dan FeCl_3 (Sa'adah, 2010)

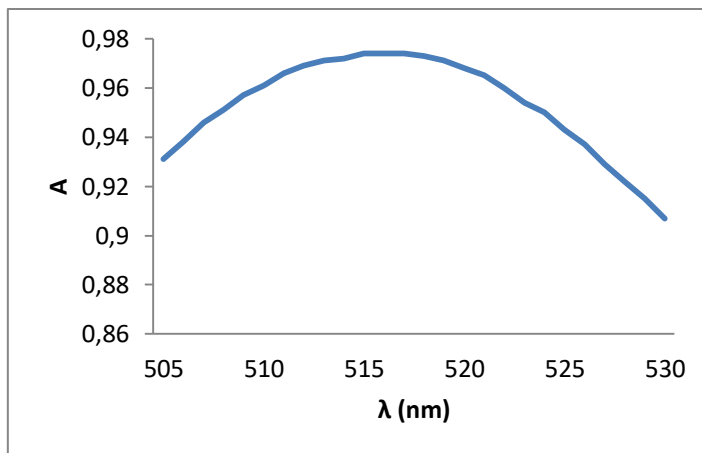
3. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Dilakukannya optimasi panjang gelombang DPPH yaitu bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimal DPPH. Panjang gelombang DPPH dapat diketahui dari nilai absorbansi terbesar. Larutan DPPH sangat rentan terhadap cahaya karena mudah terdegradasi sehingga perlu dilakukan inkubasi

didalam ruangan yang gelap. Absorbansi DPPH diukur pada panjang gelombang 505 – 530 nm.

Berdasarkan dengan hasil pengukuran yang telah dilakukan, absorbansi maksimal larutan DPPH diperoleh sebesar 0,974 dan terletak pada panjang gelombang 517 nm. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tirtizis dan Bartos (2010) bahwa larutan DPPH dilaporkan memiliki panjang gelombang maksimal 515 – 517 nm. kurva optimasi panjang gelombang DPPH dapat dilihat pada gambar 4.6.



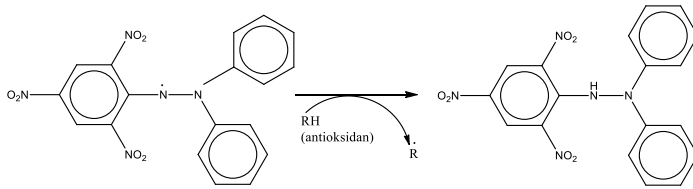
Gambar 4.6 Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Nilai absorbansi larutan DPPH ini dibandingkan dengan absorbansi fraksi etil asetat limbah daun ketapang untuk mengetahui persentase penghambatan radikal bebas DPPH oleh fraksi etil asetat limbah daun ketapang dan senyawa pembanding.

b. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dilakukan dengan metode DPPH. Metode ini menggunakan senyawa radikal bebas, yaitu DPPH. Karena terdapat elektron yang tidak berpasangan pada strukturnya sehingga dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan suatu senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya sehingga terjadi penurunan intensitas warna atau absorbansi larutan DPPH.

Pengurangan intensitas warna larutan DPPH tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa 1,1 difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning (Handayany *et al.*, 2018). Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH karena adanya penambahan senyawa penangkap radikal bebas dapat dihitung secara kuantitatif dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Reaksi terbentuknya warna kuning oleh adanya antioksidan ditunjukkan pada gambar 4.7 sebagai berikut:



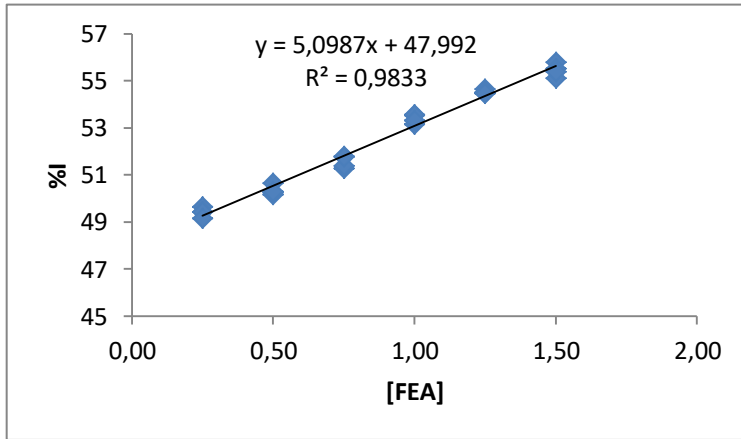
Gambar 4.7 Reaksi Terbentuknya Warna Kuning Oleh Adanya Antioksidan

Pada prinsipnya, absorbansi yang diukur adalah absorbansi larutan DPPH yang tidak bereaksi dengan bahan uji atau DPPH yang masih tersisa dalam larutan, sehingga dengan bertambahnya konsentrasi senyawa penangkap radikal bebas dalam larutan, maka absorbansi larutan akan berkurang. Hal ini berarti bahwa aktivitas penangkapan radikal bebasnya semakin meningkat.

Menurut metode ini, aktivitas antioksidan dari senyawa uji dinyatakan dengan IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linear yang dihasilkan dari pengeplotan konsentrasi senyawa uji dengan persen penghambatan DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka antioksidan suatu senyawa uji akan semakin kuat (Matuszewska *et al*, 2018).

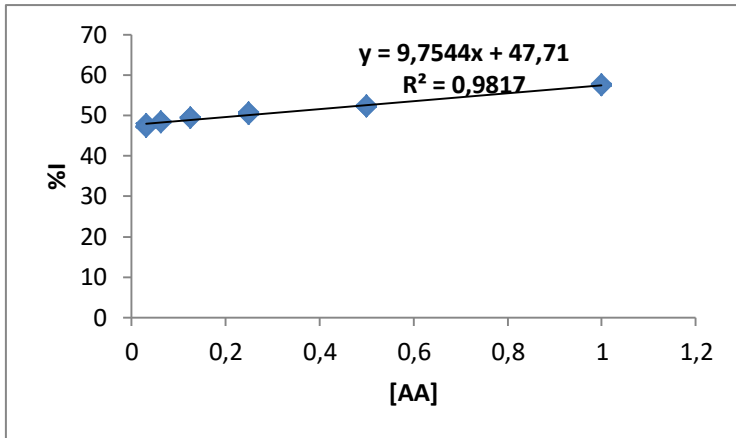
Berdasarkan % penghambatan radikal bebas DPPH oleh fraksi etil asetat limbah daun ketapang pada setiap konsentrasi uji memiliki persamaan regresi linear $y = 5,0987x + 47,992$ dengan $R^2 = 0,9833$.

sehingga konsentrasi larutan fraksi etil asetat yang mampu meredam 50% konsentrasi larutan DPPH (IC_{50}) yaitu 0,394 ppm. Hasil penelitian (Abdulkadir, 2015) menunjukkan IC_{50} ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) adalah 43,34 ppm. Sedangkan hasil penelitian (Chandel *et.al*, 2019) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *Terminalia bellerica* memiliki nilai IC_{50} sebesar 6,44 ppm. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan fraksi etil asetat daun *Terminalia bellerica*. Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dapat dilihat pada gambar 4.8.

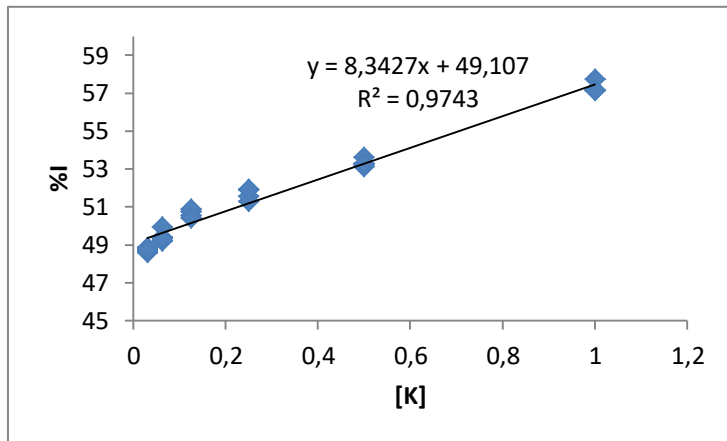


Gambar 4.8 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Senyawa yang digunakan untuk pembandingan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang yaitu asam askorbat dan kuersetin. Keduanya dipilih karena mengandung senyawa fenolat yang diduga berperan sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} asam askorbat dan kuersetin yaitu 0,235 ppm dan 0,107 ppm. Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam askorbat dan kuersetin dapat dilihat pada gambar 4.9 dan 4.10.



Gambar 4.9 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat



Gambar 4.10 Kurva Persamaan Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat limbah daun ketapang, nilai IC₅₀ fraksi etil asetat limbah daun ketapang memiliki IC₅₀ yang lebih besar. Ini artinya aktivitas antioksidan senyawa perbandingan

lebih kuat dibandingkan fraksi etil asetat limbah daun ketapang. Hal ini dikarenakan fraksi etil asetat yang diuji masih mengandung berbagai macam senyawa. Menurut Hidayat, *et.al.* (2014), didalam tanaman terdapat senyawa metabolit sekunder yang sangat berpengaruh dan masih terdapat senyawa lain yang mana dapat berkompetisi dan mempengaruhi respon yang diharapkan.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan tanin.
2. Fraksi etil asetat limbah daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,394 ppm.

B. Saran

1. Diperlukan uji aktivitas antioksidan dengan limbah jenis ketapang lainnya guna membandingkan kekuatan antioksidan fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.).
2. Diperlukan penelitian lanjutan meliputi isolasi, dan karakterisasi senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan pada fraksi etil asetat limbah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkadir, A.R. 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.
- Chandel, Shikha Rangra *et.al.* 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.
- Chang, Raymod. 2005. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Jilid 2. Edisi III. Terjemahan M. Abdulkadir Martoprawiro, dkk. Jakarta: Erlangga.
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dungir, Stev, dkk. 2012. Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online* 1(1) 11-15.
- Eleanore, Yafet. 2013. Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) Menggunakan Metode DPPH. Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.

- Fitriana, Wiwit Denny, dkk. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). SNIPS 2015: 658.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2015. Spektroskopi Molekuler Untuk Analisis Farmasi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Garcia, R.G., *et.al.* 2012. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. *3 Biotech.* 2: 297-300.
- Handajani, Fitri. 2019. *Oksidan dan Antioksidan pada Beberapa Penyakit dan Proses Penuaan*. Sidoarjo: Zifatma Jawara
- Harborne, J. B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB Bandung.
- Harborne, J.B. 1984. *Photochemical Method*. Chapman and Hall ltd. London.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Bandung: ITB.
- Hazra, Bibhabasu, *et al.* 2010. Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of *Terminalia*

chebula, *Terminalia belerica* and *Embllica officinalis*. BMC Complementary & Alternative Medicine.

Hidayat, R.S. dan Napitupulu, R.M., 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agriflo.

Istarina, Dominika., dkk. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Protobiont*. 4(3): 98-102.

Kabel, Ahmed M.. 2014. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition And Health*. 2 (3): 35 - 38. Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal biotek Medisiana Indonesia*. 3 (2): 59 - 68.

Kabera, Justin N., *et al.* 2014. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function, and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: 377 - 392.

Kementerian Agama RI. 2012. *Al-Qur'an dan terjemahnya*. Bandung: CV. Penerbit J-ART.

Kumar, vikas *et.al.* 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, A.C. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.

Kuppusamy, Saranya *et. al.* 2015. Assesment of Antioxidant activity, Minerals, Phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Journal of Industrial Crops and Products*. xxx: 1-5.

Madikizela *et al.* 2014. Isolation and Characterization of Antimicrobial Compounds from *Terminalia phanerophlebia* Engl. & Diels Leaf Extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. (1): 228–234

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.

Marliana, Eva dan Chairul Saleh, (2011), Uji Fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-Heksan a, etil asetat dan methanol dari buah labu air (*Lagenari Siceraria*(*Molina*) *Standl*), Jurnal kimia Mulawarman , Volume8, Nomor 2, Mei 2011, ISSN: 1693-5616.

- Molyneux, Philip. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2): 211 - 219.
- Muchtadi R. Tien, Sugiyono. 2014. Prinsip Proses dan Teknologi Pangan. Bandung: Alfabeta.
- Mulja dan Sharman. 1995. Analisis Instrumen. Surabaya: Airlangga University Press.
- Munir, Adil *et. al.* 2018. Evaluation of Antioxidant Potential of Vegetables Waste. *J. Environ. Stud.* (2): 947-952.
- Musarofah. 2015. Tumbuhan Antioksidan. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Nuria, Maulia Cut., dkk. 2014. Penelusuran Potensi Fraksi n-Heksan dan Etil Asetat dari Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Antidiare. Publikasiilmiah.unwahas.ac.id. diakses pada tanggal 21 September 2019.
- Panji, Tri. 2012. Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Raharjo, Tri Joko. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Rumanggit, Hanna M, dkk. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* (4): 186.
- 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.
- Samuelsson, G., 1999, *Drugs and Natural Origin, a Textbook of Pharmacognosy*, 4th, Rev. Ed., Swedish Pharm Press Sweden cit Mulyani, S., Laksana, T., 2011, Analisis Flavonoid dan Tannin dengan Metode Mikroskopi-Mikrokimiawi, *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 109-114.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I. dan Kumaunang, M., 2013. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arange pinnata*). Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Santoso, U. 2017. *Antioksidan Pangan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sari, N.K.Y, dan I M.W.A.Putra. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Akasia (*Acacia Auriculiformis*). *Jurnal Media Sains* 2 (1): 23.

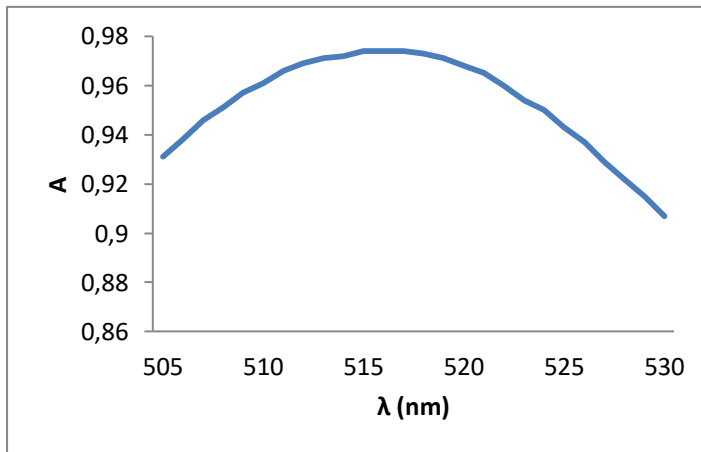
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 1996. Sintesis Bahan Alam. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Septyaningsih, D. (2010). Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus lamk*). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia 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.
- Silalahi, Jansen. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sofawati, Devi. 2012. Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi-fraksi Buah Ketapang (*Terminalia catappa L.*) Dengan Metode Penghambatan Aktivitas α -Glukosidase dan identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Yang Aktif. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Sukandar, Elin Yulinah, dkk. 2006. Uji Aktivitas Antijamur Salep dan Krim Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia catappa L.* pada kulit kelinci. *Majalah Farmasi Indonesia*. 126.

- Svehla, G. 1985. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*. Edisi kelima bagian I. Jakarta: Kalman Media Pusaka.
- Syafitri, N.E., dkk. 2014. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendog (*Malestoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*. 1 (3): 105-115.
- Tirzitis, Gunars, dan Grzegorz Bartosz. 2010. Determination of Antiradical and Antioxidant Activity: Basic principles and New Insights. *Acta Biochimica Polonica*. 57 (1): 139 – 142
- Tiwari, Prashant, *et.al*. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 1: 103-104.
- Tjitrosoepomo, G., 2001. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Muda Press.
- Triana, Evi dan Novik Nurhidayat. Uji Ekstrak Air Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Sebagai Pembersih Alami Dengan Metode *Clean In Place* (CIP). *Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Tukiran, dkk. 2016. *Analisis Awal Fitokimia pada Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Syzygium (Myrtaceae)*. Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Workshop. Surabaya 17 Nopember 2016.

- Verma, Nidhi dan Sudhir Shukla. 2015. Impact of Various Factors Responsible for Fluctuation in Plant Secondary Metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. xxx: 1 – 9.
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Wungkana, Injilia dkk. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT. (4): 154.
- Zuhrotun, Ade., dkk. 2010. Phytochemical Study of Ketapang Bark (*Terminalia catappa* L.). International Conference on Medicinal Plants.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH



Gambar L.1 Kurva optimasi panjang gelombang DPPH

Keterangan:

A = Absorbansi

λ = Panjang gelombang (nm)

Lampiran 2. Persentase Penghambatan DPPH oleh Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Tabel L.1 Persentase Penghambatan DPPH oleh Fraksi Etil Asetat Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

[fea]	A (blanko)	A (fea)	%I	%I ± SD
0,25	0,975	0,491	49,64	49,42 ± 0,19
0,25	0,967	0,489	49,43	
0,25	0,965	0,488	49,43	
0,25	0,964	0,49	49,17	
0,5	0,975	0,481	50,67	50,35 ± 0,22
0,5	0,967	0,482	50,16	
0,5	0,965	0,48	50,26	
0,5	0,964	0,479	50,31	
0,75	0,975	0,47	51,79	51,56 ± 0,25
0,75	0,967	0,471	51,29	
0,75	0,965	0,469	51,4	
0,75	0,964	0,465	51,76	
1	0,975	0,453	53,54	53,4 ± 0,19
1	0,967	0,449	53,57	
1	0,965	0,452	53,16	
1	0,964	0,45	53,32	
1,25	0,975	0,442	54,67	54,53 ± 0,09
1,25	0,967	0,44	54,5	
1,25	0,965	0,439	54,5	
1,25	0,964	0,439	54,46	
1,5	0,975	0,431	55,79	55,46 ± 0,28
1,5	0,967	0,43	55,53	
1,5	0,965	0,433	55,13	
1,5	0,964	0,43	55,39	

Lampiran 3. Persentase Penghambatan DPPH oleh Asam Askorbat

Tabel L.2 Persentase Penghambatan DPPH oleh Asam Askorbat

[AA]	A (blanko)	A (AA)	%I	%I ± SD
0,03125	0,5	0,264	47,2	47,39 ± 0,4
0,03125	0,49	0,255	47,96	
0,03125	0,47	0,249	47,02	
0,03125	0,46	0,242	47,39	
0,0625	0,5	0,257	48,6	48,38 ± 0,24
0,0625	0,49	0,253	48,37	
0,0625	0,47	0,242	48,51	
0,0625	0,46	0,239	48,04	
0,125	0,5	0,254	49,2	49,43 ± 0,17
0,125	0,49	0,248	49,39	
0,125	0,47	0,237	49,57	
0,125	0,46	0,232	49,56	
0,25	0,5	0,246	50,8	50,52 ± 0,26
0,25	0,49	0,243	50,4	
0,25	0,47	0,234	50,21	
0,25	0,46	0,227	50,65	
0,5	0,5	0,239	52,2	52,24 ± 0,25
0,5	0,49	0,235	52,04	
0,5	0,47	0,225	52,13	
0,5	0,46	0,218	52,6	
1	0,5	0,211	57,8	57,5 ± 0,2
1	0,49	0,209	57,35	
1	0,47	0,2	57,45	
1	0,46	0,196	57,4	

Lampiran 4. Persentase Penghambatan DPPH oleh Kuersetin

Tabel L.3 Persentase Penghambatan DPPH oleh Kuersetin

[K]	A (blanko)	A (K)	%I	%I ± SD
0,03125	0,738	0,379	48,64	48,7 ± 0,12
0,03125	0,735	0,378	48,57	
0,03125	0,733	0,375	48,84	
0,03125	0,73	0,374	48,77	
0,0625	0,738	0,375	49,19	49,45 ± 0,33
0,0625	0,735	0,372	49,39	
0,0625	0,733	0,367	49,93	
0,0625	0,73	0,37	49,32	
0,125	0,738	0,365	50,54	50,65 ± 0,21
0,125	0,735	0,362	50,75	
0,125	0,733	0,36	50,89	
0,125	0,73	0,362	50,41	
0,25	0,738	0,355	51,9	51,67 ± 0,3
0,25	0,735	0,356	51,56	
0,25	0,733	0,357	51,3	
0,25	0,73	0,351	51,92	
0,5	0,738	0,346	53,12	53,3 ± 0,22
0,5	0,735	0,344	53,2	
0,5	0,733	0,34	53,62	
0,5	0,73	0,341	53,29	
1	0,738	0,312	57,72	57,29 ± 0,29
1	0,735	0,315	57,14	
1	0,733	0,314	57,16	
1	0,73	0,313	57,12	

Lampiran 5. Perhitungan % Rendemen

a. Contoh Perhitungan % Rendemen Ekstrak

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{109,32 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 10,9\%$$

b. Contoh Perhitungan % Rendemen Fraksi Etil Asetat

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{8,06 \text{ g}}{109,3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 7,37\%$$

Lampiran 6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

a. Contoh Perhitungan Persentase Penghambatan (% I) DPPH

$$A_{\text{blanko}} = 0,975$$

$$A_{\text{sampel}} = 0,484$$

$$\%I = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

$$\%I = \frac{0,975 - 0,484}{0,975} \times 100\%$$

$$\%I = 50,3\%$$

b. Contoh Perhitungan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC₅₀)

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 5,7729x + 47,88$, $R^2 = 0,977$

$$y = ax + b$$

$$y = 5,7729x + 47,88$$

$$x = \frac{50 - 47,88}{5,7729}$$

$$x = 0,367$$

Jadi, nilai IC₅₀ sebesar 0,367 ppm.

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

a. Ekstraksi dan Fraksinasi



Gambar L.2 Serbuk Kering Limbah Daun Ketapang



Gambar L.3 Proses Maserasi dengan Etanol



Gambar L.4 Ekstrak Etanol



Gambar L.5 Proses Evaporasi



Gambar L.6 Ekstrak Etanol Kental



Gambar L.7 Fraksinasi dengan n-heksan



Gambar L.8 Fraksinasi dengan Etil Asetat



Gambar L.9 Fraksi Etil Asetat

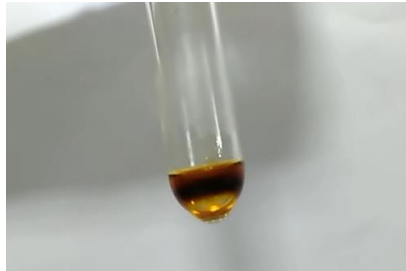


Gambar L.10 Fraksi Etil Asetat Kental

b. Uji Fitokimia



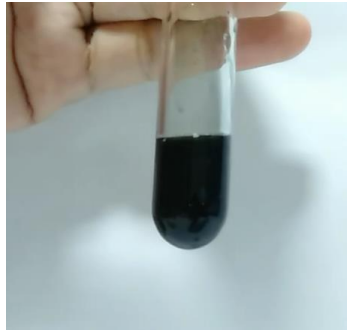
Gambar L.11 Uji Flavonoid



Gambar L.12 Uji Steroid/Triterpenoid



Gambar L.13 Uji Fenol

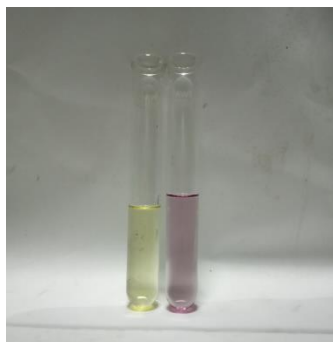


Gambar L.14 Uji Tanin

b. Uji Antioksidan



Gambar L.15 Larutan DPPH



Gambar L.16 Uji Aktivitas Antioksidan fraksi etil asetat + DPPH (kiri), kontrol DPPH (kanan)

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Shilfi Millati Wahidah
2. Tempat/Tgl.Lahir : Demak, 26-09-1997
3. Alamat Rumah : Kalitengah, Mranggen Demak
4. Telepon/Hp : 085792189978
5. Email : shilfy.milla1@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. TK Budi Lestari Tahun Ajaran 2001 - 2003
 - b. SDN Kalitengah 1 Tahun Ajaran 2003 - 2009
 - c. MTsN Karangawen Tahun Ajaran 2009 - 2012
 - d. SMA Ma'arif Karangawen Tahun Ajaran 2012 - 2015
2. Pendidikan Non-Formal
 - a. Madrasah Diniyyah Sholihyyah Tahun Ajaran 2003 - 2009
 - b. Pondok Pesantren Hishnun Naja Karangawen Tahun Ajaran 2009 - 2012
 - c. Pondok Pesantren Roudhlotul Qur'an Jragung Karangawen Tahun Ajaran 2012 - 2015
 - d. PPTQ Al-Hikmah Tugurejo Tugu Semarang Tahun Ajaran 2015 - sekarang