

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI
N-HEKSANA DAUN GUGUR KETAPANG
(*Terminalia catappa* L.) MENGGUNAKAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

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



Oleh:

SETYA ADJI WICHAKSONO

NIM: 1508036006

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2021**

PENYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Setya Adji Wichaksono

NIM : 1508036006

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSANA DAUN GUGUR KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) MENGUNAKAN METODE DPPH

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

Semarang, 15 Juni 2021

Pembuat Pernyataan,



Setya Adji Wichaksono

NIM: 1508036006



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jln. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp. (024) 7601295 Fax. 7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini

Judul : **Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa L.*) Menggunakan Metode DPPH**

Penulis : Setya Adji Wichaksono

Jurusan : Kimia

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

Semarang, 28 Juni 2021

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang,

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

NIP. 198104142005012003

Sekretaris Sidang,

Mulyatun, S.Pd., M.Si.

NIP. 198305042011012008

Penguji I,

Dr. Eng. Annisa Adiwena Putri, M.Sc.

NIP. 19850405 2011012 015

Penguji II,

Dr. Ervin Tri Suryandari, M.Si.

NIP. 197407162009122001

Pembimbing I,

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

NIP. 198104142005012003

Pembimbing II,

Mutista Hafshah, M.Si.

NIP. 199401022019032015



NOTA DINAS

Semarang, 14 Juni 2021

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-Heksana Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode DPPH**

Penulis : Setya Adji Wichaksono

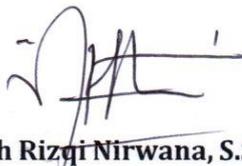
NIM : 1508036006

Jurusan : Kimia

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

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing I,



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

NIP. 19810414 200501 2 003

NOTA DINAS

Semarang, 11 Juni 2021

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-Heksana Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode DPPH**

Penulis : Setya Adji Wichaksono

NIM : 1508036006

Jurusan : Kimia

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

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing II,



Mutista Hafshah, M.Si.

NIP. 19940102 201903 2 015

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur penulis lantunkan atas nikmat Allah SWT yang telah membimbing dan memberi jalan untuk mencapai segala ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Skripsi di Program S1 Kimia. Dengan ini, penulis mempersembahkan karya Skripsi ini kepada:

1. Bapak Siswanto (Ayah) dan Ibu Umiyati (Ibu) yang telah mengorbankan tenaga dan bantuan moril, sehingga dapat menyelesaikan hambatan dalam menempuh studi dan dapat menyelesaikannya.
2. Muhammad Khabibullah (Kakak) yang telah memberikan motivasi dan dukungan untuk menyelesaikan studi.

MOTTO

وَلَا تَهِنُوا وَلَا تَحْزِنُوا وَأَنْتُمْ الْأَعْلَوْنَ إِنْ كُنْتُمْ مُؤْمِنِينَ (آل عمران: ١٣٩)

*“Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah (pula) kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang-orang yang beriman”
(QS. Ali Imram [3]: 139)*

“Menjalankan Alur dan Menetapkan Titik Busur”

ABSTRAK

Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana
Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
Menggunakan Metode DPPH
Nama Penulis : Setya Adji Wichaksono
NIM : 1508036006

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit degeneratif yang menyebabkan kematian terbesar secara global sebanyak 31% (17,9 juta) dan di Indonesia, yaitu 35% dari 1,863 juta kematian. Penyakit kardiovaskular dapat dipicu karena adanya reaksi oksidatif dari radikal bebas. Efek negatif radikal bebas dapat dicegah dengan antioksidan. Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan salah satu tanaman keluarga *Combretaceae* yang memiliki khasiat sebagai tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan mengevaluasi potensi aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.), serta kandungan steroid pada simplisia. Aktivitas antioksidan dievaluasi menggunakan metode DPPH. Daun gugur ketapang dimaserasi dengan etanol, dilanjutkan difraksinasi dengan n-heksana melalui metode ekstraksi cair-cair. Fraksi n-heksana mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid. Kadar steroid pada daun ketapang sebesar 0,06% dari bagian tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana daun gugur ketapang memiliki intensitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 0,670 ppm terhadap radikal DPPH 0,06 mM, sedangkan asam askorbat dan kuersetin sebagai senyawa pembanding memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,113 ppm dan 0,076 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa daun gugur ketapang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Kata Kunci : Daun gugur ketapang, steroid, antioksidan, DPPH.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirrobbil'alamiin, segala puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menggunakan Metode DPPH”. Sholawat serta salam semoga terlimpah pada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang diutus untuk menyempurnakan akhlaq manusia, dan yang kita nantikan syafa’atnya di hari akhir kelak.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Strata Satu (S1) Fakultas Sains dan Teknologi di Universitas Islam Negeri (UIN) Walisongo Semarang. Penulis menyadari bahwa selesainya skripsi ini tidak terlepas dari berbagai pihak yang telah memberikan semangat, bantuan, dan bimbingan kepada penulis. Maka pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Imam Taufiq, M.Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang
2. Bapak Dr. H. Ismail, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

3. Ibu Hj. Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang.
4. Ibu Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Mutista Hafshah, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga, serta memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak R. Arizal Firmansyah, S. Pd., M.Si., selaku dosen yang mengawali jalannya penelitian.
6. Segenap Dosen dan Staf Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah mencurahkan ilmunya.
7. Kedua orang tuaku, Bapak Siswanto dan Ibu Umiyati, dan kakakku, Muhammad Khabibullah, serta keluarga besar, yang memberikan dukungan moral, spiritual maupun material.
8. Teman-teman Program Studi Kimia angkatan 2015 yang sama-sama berjuang menyelesaikan skripsi.
9. Keluarga Besar UKM Kempo Dojo Miftahul Jannah UIN Walisongo Semarang.
10. Serta semua pihak yang menanyakan kelulusan dan turut membantu menyelesaikan skripsi ini.

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah terlibat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah

SWT senantiasa melimpahkan berkah dan hidayah-Nya, serta menjadi amal ibadah. Amiin.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini belum sempurna, sehingga penulis menerima saran serta kritik yang membangun guna memperoleh hasil yang lebih baik. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat, sehingga dapat membantu dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, 15 Juni 2021

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Setya Adji Wichaksono', with a long horizontal line extending to the right.

Setya Adji Wichaksono

NIM: 1508036006

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PENYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING	iv
PERSEMBAHAN.....	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi

BAB I: PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Manfaat Penelitian	7

BAB II: LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

A. Landasan Teori	9
1. Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	9
2. Simplisia	13
3. Ekstrak dan Ekstraksi.....	14

4. Fraksinasi.....	23
5. Radikal Bebas.....	24
6. Antioksidan ..xii.....	26
7. Metode Analisa Antioksidan	29
8. Metode DPPH	34
9. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH	36
10. Senyawa Metabolit Sekunder	37
11. Spektroskopi UV-Vis	43
B. Kajian Pustaka	49

BAB III: METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian	53
B. Tempat dan Waktu Penelitian	53
C. Sampel dan Populasi Penelitian	54
D. Alat	54
E. Bahan	55
F. Prosedur Kerja	56
G. Analisis Data	64

BAB IV: DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

A. Deskripsi Data	67
1. Penyiapan Simplisia	67
2. Ekstraksi	67
3. Penapisan Fitokimia	67
4. Kadar Steroid	67

5. Aktivitas Antioksidan	69
B. Analisis Data	72

BAB V: PENUTUP

A. Kesimpulan	97
B. Saran	97

Daftar Pustaka

Lampiran

Riwayat Hidup

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi kekuatan antioksidan	36
Tabel 2.2	Beberapa pelarut yang digunakan pada spektroskopi ultraviolet	45
Tabel 4.1	Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksana daun gugur ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	68
Tabel 4.2	Persentase penghambatan DPPH oleh fraksi n-heksana daun gugur ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	70
Tabel 4.3	Persentase penghambatan DPPH oleh asam askorbat	71
Tabel 4.4	Persentase penghambatan DPPH oleh kuersetin	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	a. Pohon ketapang; b. Daun ketapang	10
Gambar 2.2	Proses maserasi	17
Gambar 2.3	Proses perkolasi	18
Gambar 2.4	Proses refluks	19
Gambar 2.5	Proses ekstraksi dengan soxhlet	20
Gambar 2.6	Alat digesti	21
Gambar 2.7	Proses infusi	21
Gambar 2.8	Proses dekoksi	22
Gambar 2.9	Struktur DPPH	35
Gambar 2.10	Kerangka dasar alkaloid	38
Gambar 2.11	Struktur umum kelompok utama senyawa flavonoid	39
Gambar 2.12	Struktur kolestrol dan beberapa saponin steroid	42
Gambar 2.13	Transisi dari orbital penuh ke orbital yang sebelumnya kosong	44
Gambar 4.1	Reaksi uji Mayer	80
Gambar 4.2	Reaksi uji Dragendorff	80
Gambar 4.3	Mekanisme reaksi uji steroid	82
Gambar 4.4	Reaksi hidrolisis saponin dalam air	83
Gambar 4.5	Reaksi fenol hidrokuinon dengan FeCl_3 ..	84
Gambar 4.6	Reaksi tanin dengan FeCl_3	85

Gambar 4.7	Mekanisme reaksi reduksi radikal bebas DPPH dengan antioksidan	89
Gambar 4.8	Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang	90
Gambar 4.9	Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan asam askorbat.....	92
Gambar 4.10	Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan kuersetin.....	92

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit tidak menular (*Non-Communicable Diseases*, NCDs) merupakan tantangan kesehatan yang menyebabkan kematian utama secara global di abad 21. Hasil riset *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2016, penyakit tidak menular menyebabkan 42 juta (71%) dari 57 juta kematian secara global. Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit tidak menular penyebab kematian tertinggi secara global dengan persentase sebanyak 31% (17,9 juta) kematian. Persentase kematian akibat penyakit kardiovaskular juga termasuk tertinggi di Indonesia, yaitu 35% dari 1,863 juta kematian di tahun 2016 (WHO, 2018).

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit degeneratif yang disebabkan adanya gangguan pembuluh darah dan fungsi jantung. Stroke dan jantung koroner merupakan beberapa penyakit kardiovaskular yang paling umum dan terkenal. Salah satu pemicu timbulnya penyakit-penyakit degeneratif yaitu adanya reaksi oksidatif dari molekul radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul atau elemen yang kehilangan satu atau lebih elektronnya. Radikal bebas akan mencari elektron pasangannya karena

kehilangan elektronnya yang mengakibatkan radikal bebas sangat reaktif, tidak stabil dan dapat merusak sel-sel hidup (sitotoksik). Aktivitas radikal bebas akan memicu penyakit degeneratif dalam jangka panjang karena tidak optimalnya fungsi sel (Sutrisna, 2013).

Antioksidan merupakan molekul yang bisa mencegah efek negatif dari radikal bebas dengan menghentikan terjadinya reaksi oksidasi. Mekanisme kerja antioksidan dapat bertindak sebagai donor elektron, mengurangi spesies oksigen reaktif, mengkomplekskan ion logam transisi atau regenerasi antioksidan lain, seperti tokoferol (vitamin E) (Renard, 2018). Berdasarkan sumbernya, antioksidan terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Namun, penggunaan antioksidan sintetik dapat berkontribusi terhadap karsinogenisitas atau tumorigenitas (Shalaby dan Shanab, 2013). Sehingga pengembangan antioksidan alami mendapat perhatian besar yang bertujuan untuk pengobatan preventif dan untuk industri makanan (Wahdaningsih, Setyowati, & Wahyuono, 2011).

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan dalam pengobatan. Penggunaan ketapang sebagai tumbuhan obat memiliki beberapa keuntungan, diantaranya murah, mudah

diperoleh, tidak menimbulkan resistensi, relatif lebih aman, serta relatif tidak berbahaya bagi lingkungan (Munira *et al.*, 2018). Ketapang telah digunakan untuk mengobati radang rongga perut, lepra, diuretik, kardiotonik, dan obat luar pada erupsi kulit (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Hal ini dibuktikan berdasarkan hasil penelitian, bahwa ketapang memiliki aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai antioksidan, antimikroba, antidiabetes, penyembuh luka, antikanker, hepatoprotektif, antiinflamasi, serta antitukak dan anti-*Helicobacter pulori* pada lambung (Chole dan Ravi, 2020).

Daun merupakan salah satu bagian tumbuhan ketapang yang sering digunakan dalam penelitian. Menurut Abdulkadir (2013), ekstrak etanol daun ketapang merupakan sumber fenolik dan flavonoid yang baik dan memiliki intensitas sangat kuat sebagai antioksidan. Penelitian Tasneem dan Narsegowda (2019) memperkuat penelitian Abdulkadir (2013), bahwa ekstrak etanol dari dua varietas daun ketapang yang berbeda, yaitu daun berwarna kuning dan merah memiliki aktivitas yang sangat kuat. Daun ketapang diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, kuinon, resin, saponin, steroid, tanin dan triterpenoid (Munira *et al.*, 2018).

Senyawa metabolit sekunder merupakan biomolekul yang memiliki peran dalam pengembangan obat-obatan. Senyawa golongan fenolik dan flavonoid selama ini telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Septiani (2018), senyawa steroid pada daun jambang (*Syzygium cumini* L. Skeels) disebutkan memiliki nilai IC_{50} sebesar 52,435 $\mu\text{g/ml}$ dengan intensitas antioksidan yang kuat. Steroid diketahui merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang berada dalam daun ketapang (Munira *et al.*, 2018). Adanya senyawa steroid pada daun ketapang diduga memiliki aktivitas antioksidan

Salah satu metode pemisahan senyawa yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan sampel daun ketapang yaitu fraksinasi. Pada proses fraksinasi, pelarut yang bersifat polar dan semipolar selama ini sering digunakan sebagai pelarut. Penggunaan pelarut nonpolar seperti n-heksana justru belum banyak digunakan. Padahal senyawa metabolit sekunder dalam daun ketapang tentunya mengandung senyawa dengan perbedaan tingkat kepolaran. Menurut Muhammad dan Mudi (2011), fraksi n-heksana daun ketapang diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti steroid, saponin, dan resin. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh

Muhammad dan Mudi (2011) dan Septiani (2018), fraksi n-heksana daun ketapang diduga memiliki aktivitas antioksidan karena adanya senyawa metabolit sekunder steroid.

Ketapang merupakan tanaman keluarga *cambretaceae* yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman peneduh. Pemanfaatan ketapang sebagai tanaman peneduh menghasilkan produk samping (limbah), salah satunya yaitu daun ketapang yang berguguran. Daun gugur ketapang diketahui dapat dimanfaatkan sebagai bahan zat warna. Vadwala dan Kola (2017) melaporkan, bahwa daun ketapang dapat memberikan warna yang baik dan tahan luntur, karena adanya senyawa tanin yang tinggi didalamnya. Menurut Purnama, Eriani, dan Hidayati (2019), daun ketapang yang telah kering bahkan mengandung senyawa tanin yang lebih besar jika dibandingkan dengan daun ketapang yang masih segar. Daun gugur ketapang diketahui dapat digunakan sebagai biosorben pada proses adsorpsi (Yully, Muhdarina, & Nurhayati, 2015). Menurut riset Maryani, Monalisa, dan Panjaitan (2020), daun ketapang gugur efektif sebagai bakteriostatik karena memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *Edwarsiella tarda*.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, didukung kandungan metabolit sekunder yang dimiliki daun ketapang, maka dilakukan suatu penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan dari daun gugur ketapang. Penelitian ini menggunakan fraksi n-heksana dari ekstrak etanol daun gugur ketapang sebagai sampel uji. Pada penelitian ini akan dilakukan penapisan fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.). Studi penelitian terhadap daun gugur ketapang diharapkan dapat digunakan sebagai bahan alami penyembuhan penyakit dalam bidang kesehatan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, rumusan masalah dari penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.)?
2. Berapa kadar steroid yang terkandung dalam daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.)?
3. Berapa nilai IC_{50} dari fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap radikal bebas DPPH?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang diharapkan dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.).
2. Untuk mengetahui kadar steroid yang terkandung dalam daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.).
3. Untuk menentukan nilai IC_{50} dari fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap radikal bebas DPPH.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam:

1. Memberikan landasan ilmiah mengenai khasiat dari daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) bagi kesehatan.
2. Memberikan informasi mengenai proses pengujian daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai antioksidan.
3. Meningkatkan nilai tambah daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan.

4. Mendukung upaya pengembangan potensi dari bahan alam sebagai bahan pangan dan obat-obatan.

BAB II

LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

a. Karakteristik

Ketapang merupakan pohon yang secara alami tersebar di iklim subtropis dan tropis wilayah Samudra Hindia dan Pasifik yang secara luas ditanam di seluruh daerah tropis (Thomson dan Evans, 2006). Ketapang memiliki berbagai nama di Indonesia, diantaranya: *hatapang* (Batak); *sarisa*, *sirisa*, *sirisal*, *sarisalo* (Maluku); *ngusu*, *tiliho*, *tiliso* (Maluku Utara); *katapieng* (Minangkabau); *katafa* (Nias); *kalis*, *kris* (Papua Barat); *lisa* (Rote); *lahapang* (Simeulue); *salrisé*, *talisei*, *tarisei* (Sulawesi Utara); *ketapas* (Timor) (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

Ketapang merupakan pohon besar yang dapat mencapai tinggi 40 m. Saat dewasa, batangnya dapat mencapai 150 cm. Bertajuk rindang dengan cabang-cabang yang tumbuh mendatar dan bertingkat-tingkat seperti pagoda (Orwa *et al.*, 2009; Thomson dan Evans, 2006; Hidayat dan Napitupulu, 2015), sehingga kurang terlihat saat cabang-cabangnya

memanjang dan terkulai di ujungnya. Kulitnya berwarna coklat keabu-abuan, serta semakin kasar dengan bertambahnya usia (Orwa *et al.*, 2009). Akarnya tunggang bercabang (*ramosus*) dengan bentuk kerucut panjang yang tumbuh lurus ke bawah dan bercabang. Sehingga memberikan kekuatan pada batang serta membuat daya serap terhadap air dan zat makanan lebih besar (Tjitrosoepomo, 2001).

Daun ketapang memiliki tangkai pendek dengan bentuk *obovate* (bulat telur terbalik) yang terkumpul secara spiral di ujung cabang. Daun ketapang memiliki panjang 15 cm hingga 36 cm, serta lebar 8 cm hingga 24 cm. Ujung daunnya bulat dan tumpul. Daun yang telah matang berwarna hijau tua, mengkilap, dan kasar. Daun akan berubah menjadi kuning terang, kemudian merah gelap sebelum jatuh (Orwa *et al.*, 2009; Thomson dan Evans, 2006).



Gambar 2.1 a. Pohon ketapang; b. Daun ketapang
(Dokumentasi pribadi)

Bunga ketapang berwarna krem atau putih, dengan panjang 8 cm hingga 25 cm, sebagian besar bunganya jantan dan beberapa bunga biseksual yang muncul di bawah, namun ukurannya kecil (Orwa *et al.*, 2009; Thomson dan Evans, 2006). Warna buah ketapang awalnya hijau. Saat matang, warna buah ketapang berubah menjadi kuning atau kemerahan dengan panjang hingga 7 cm. Bijinya berbentuk silindris yang terbungkus kulit yang keras dan berserat (Orwa *et al.*, 2009; Tjitrosoepomo, 2001).

Menurut itis.gov, (20 Mei 2021), ketapang memiliki taksonomi yang tersusun sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Super	: Rosanae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Combretaceae
Genus	: Terminalia
Spesies	: <i>Terminalia catappa</i> L.

b. Kandungan dan Manfaat Ketapang

Ketapang mengandung senyawa obat, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, resin, steroid, dan saponin (Tjitrosoepomo, 2001). Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dilaporkan mengandung beberapa bahan kimia penting seperti asam chebulagic, corilagin, asam gentisic, granatin-B, dan kaempferol. Bijinya mengandung asam arachidic, asam askorbat, serat, lemak, asam linoleat, asam palmitat. Ketapang kaya akan mineral seperti kalsium, zat besi, kalium, fosfor, dan natrium. Ini menunjukkan adanya karbohidrat, protein, lemak serta air pada ketapang. Buah ketapang dilaporkan kaya akan tanin (Chole dan Ravi, 2020). Menurut Tasneem dan Narsegowda (2019), daun ketapang yang diekstrak dengan metanol diketahui mengandung protein, alkaloid, saponin, karbohidrat, glikosida, tanin, flavonoid, asam amino serta fenol.

Ketapang adalah salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional. Ketapang diketahui dapat digunakan untuk obat luar pada erupsi kulit, radang rongga perut, diuretik, lepra, dan kudis (Hidayat dan Napitupulu, 2015). Ketapang memiliki aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai

antidiabetes, antikanker, antimikroba, antioksidan, penyembuh luka, hepatoprotektif, antiinflamasi, serta antitukak dan anti-*Helicobacter pylori* pada lambung (Chole dan Ravi, 2020).

2. Simplisia

Simplisia atau disebut dengan herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan dan belum mengalami pengolahan yang diperuntukkan dalam pengobatan. Pengeringan simplisia menggunakan suhu kurang dari 60 °C, kecuali dinyatakan lain (Depkes RI, 2008).

Terdapat dua istilah untuk simplisia, yaitu simplisia segar serta simplisia nabati. Simplisia segar yaitu simplisia bahan alam segar yang belum dikeringkan. Adapun simplisia nabati yaitu simplisia yang berupa eksudat tumbuhan, bagian tumbuhan, atau tumbuhan utuh. Eksudat tumbuhan adalah isi sel tumbuhan yang keluar secara spontan, atau penggunaan prosedur tertentu untuk mengeluarkan isi sel atau pemisahan zat nabati lain dari tumbuhannya (Depkes RI, 2008).

Derajat kehalusannya simplisia nabati dapat berupa serbuk sangat halus, halus, agak kasar, kasar dan sangat kasar. Serbuk simplisia nabati tidak boleh mengandung benda asing dan fragmen jaringan yang

bukan bagian asli dari simplisia yang bersangkutan, diantaranya sisa tanah, bagian dari hama dan serangga, serta telur nematoda (Depkes RI, 2008).

3. Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, maupun cair yang dibuat dengan menyari simplisia hewani atau nabati dengan prosedur yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 2008). Ekstrak diperoleh melalui proses ekstraksi. Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa metabolit sekunder dari ampas, atau bagian, atau biomassa yang tidak dibutuhkan karena dapat mengganggu, baik dalam penyajian maupun efektivitas manfaat bahan aktifnya. Prinsip dari proses ekstraksi diawali dengan pembukaan dinding sel atau jaringan, kemudian menarik senyawa target menggunakan pelarut yang sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa (Nugroho, 2017).

Menurut Smith (2003, dalam Kumoro, 2015), metode ekstraksi dapat ditujukan untuk:

- a. Mengekstraksi sampel bagian tanaman yang kompleks untuk menghasilkan senyawa bahan aktif yang diinginkan.
- b. Mengembangkan standarisasi metode ekstraksi, agar tidak tergantung pada variasi matriks sampel

tanaman yang diekstrak dan menghasilkan ekstrak yang konsisten apabila diulang.

- c. Mengkonversi senyawa bahan aktif menjadi senyawa yang lebih stabil untuk kebutuhan pemisahan dan identifikasi.
- d. Meningkatkan selektivitas teknik analisis yang digunakan.
- e. Meningkatkan sensitivitas uji biologi (*bioassay*), sehingga konsentrasi senyawa bahan aktif dapat ditingkatkan.

Metode ekstraksi yang ideal adalah metode ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diharapkan dengan cepat, murah, mudah dilakukan, ramah lingkungan, menghasilkan ekstrak sebanyak mungkin, serta konsisten hasil yang diperoleh apabila dilakukan pengulangan (Kumoro, 2015).

Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pada umumnya pemilihan pelarut dipengaruhi beberapa faktor sebagai berikut :

- a. Harga pelarut harus semurah mungkin.
- b. Pelarut harus bersifat inert, sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain.

- c. Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi.
- d. Pelarut harus mempunyai titik didih seragam, dan jika diuapkan tidak tertinggal dalam produk.
- e. Pelarut harus tidak mudah terbakar.
- f. Selektivitas, yaitu pelarut harus dapat melarutkan semua zat yang akan diekstrak dengan cepat dan sempurna (Kwartiningsih *et al.*, 2009).

Berdasarkan pelarut yang digunakan, ekstraksi dibagi menjadi ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi cara panas, diantaranya refluks, soxhlet, digesti, infusi, serta dekoksi

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia menggunakan pelarut pada suhu ruang dalam wadah tertutup dengan melibatkan perendaman bahan tanaman (bubuk atau kasar) dengan beberapa kali dilakukan pengadukan atau pengocokan sampai bahan terlarut. Proses maserasi dimaksudkan untuk menghancurkan dinding sel dan melunakkan bagian tanaman untuk melarutkan senyawa fitokimia (Azwanida, 2015). Metode

maserasi paling cocok digunakan untuk menghindari kerusakan senyawa yang bersifat termolabil (tidak stabil pada suhu tinggi) (Mukhriani, 2014).



Gambar 2.2 Proses maserasi (Dokumentasi pribadi)

b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif sediaan tinktur dan ekstrak cair bagian tanaman (Kumoro, 2015; Tiwari *et al.*, 2011). Proses perkolasi dilakukan dengan memasukkan serbuk sampel dalam sebuah perkolator, yaitu wadah silinder sempit berbentuk kerucut terbuka pada kedua ujungnya, dan dilengkapi kran dibagian bawahnya. Sampel yang akan diekstrak dibasahi selama kurang lebih empat jam dengan pelarut yang sesuai dalam tangki tertutup. Sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam perkolator tertutup dan dilakukan maserasi lanjutan selama 24 jam. Sejumlah pelarut biasanya ditambahkan hingga terbentuk lapisan tipis pada bagian atas sampel dan

dibiarkan menetes perlahan (Kumoro, 2015; Mukhriani, 2014; Tiwari *et al.*, 2011). Proses perkolasi biasanya menggunakan kecepatan sedang (misalnya 6 tetes per menit) hingga ekstraksi selesai untuk mendapatkan ekstrak pekat (Azwanida, 2015). Kelebihan metode perkolasi yaitu pelarut baru selalu mengalir sampel. Sedangkan kekurangan metode perkolasi diantaranya memakan banyak waktu, memerlukan banyak pelarut dan sampel harus homogen agar pelarut dapat menjangkau seluruh area perkolator (Mukhriani, 2014).



Gambar 2.3 Proses perkolasi (Nugroho, 2017)

Ekstraksi panas merupakan ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu yang lebih tinggi dibandingkan suhu ruang (kamar).

a. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan memasukkan sampel bersama pelarut yang

dipanaskan hingga titik didihnya dalam labu yang disambungkan dengan kondensor. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Mukhriani, 2014). Metode refluks dapat menghemat pelarut dan rendemen yang dihasilkan lebih tinggi karena berlangsung pada suhu tinggi, sehingga menyebabkan jaringan dan sel tumbuhan mudah rusak. Namun, penggunaan refluks juga berpotensi terjadinya degradasi senyawa yang bersifat termolabil dan biaya energi yang lebih besar karena menggunakan proses pemanasan dan pendinginan pada kondensor (Nugroho, 2017).



Gambar 2.4 Proses refluks (Nugroho, 2017)

b. Soxhlet

Ekstraksi dengan soxhlet adalah metode mengekstraksi serbuk simplisia yang dibungkus dengan kertas saring yang kuat kemudian dimasukkan pada ruang ekstraksi dalam alat soxhlet

yang sebelumnya telah ditempatkan pelarut pada labu soxhlet (Kumoro, 2015). Kelebihan ekstraksi dengan soxhlet yaitu proses ekstraksi dapat berjalan lebih cepat dan efisien karena berlangsung secara kontinu dimana pelarut yang terkondensasi akan menetes dan membasahi sampel dan senyawa yang terlarut akan terbawa ke labu soxhlet. Penggunaan metode dengan soxhlet dapat merusak senyawa metabolit yang sensitif terhadap panas (Nugroho, 2017).



Gambar 2.5 Proses ekstraksi dengan soxhlet (Nugroho, 2017)

c. Digesti

Digesti adalah proses maserasi menggunakan pemanasan hingga mencapai suhu diatas suhu kamar dengan pengadukan secara perlahan selama proses ekstraksi (Kumoro, 2015).



Gambar 2.6 Alat digesti (lansida.blogspot.com)

d. Infusi

Infusi adalah ekstraksi bagian tanaman melalui maserasi dalam jangka waktu yang pendek menggunakan air mendidih atau air dingin. Ketahanan senyawa bahan aktif yang diekstraksi berpengaruh pada pemilihan suhu (Kumoro, 2015).



Gambar 2.7 Proses infusi (hearthandvine.com)

e. Dekoksi

Dekoksi adalah metode untuk mengekstrak bahan aktif yang larut dalam air dan stabil terhadap

panas dengan merebus menggunakan air mendidih pada waktu dan volume tertentu, lalu didinginkan dan disaring atau ditekan, sehingga cairan ekstrak dapat dipisahkan dengan ampasnya (Kumoro, 2015).



Gambar 2.8 Proses dekoksi (botanicaltruth.com)

Metode maserasi dipilih untuk mengekstrak simplisia pada penelitian ini. Pelarut yang sering digunakan untuk proses maserasi adalah alkohol atau air. Pada proses maserasi, campuran pelarut dan sampel disaring untuk memperoleh bagian cairannya saja, selanjutnya disaring atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu agar jernih (Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 1882; dalam Kumoro, 2015). Dalam metode maserasi, panas ditransfer melalui konveksi dan konduksi, sedangkan jenis senyawa yang diekstrak dari sampel ditentukan dari pemilihan pelarut (Azwanida, 2015).

Metode maserasi memiliki kelebihan, diantaranya lebih sedikit alkohol yang hilang sebagai pelarut, tidak harus berwujud serbuk halus bagian tanaman yang akan diekstrak, serta tidak dibutuhkan keahlian khusus. Adapun kelemahan metode maserasi yaitu diperlukan pengadukan atau penggojogan, penyaringan atau pengepresan, ampas mengandung residu pelarut, serta tidak konsistennya mutu produk akhir (Kumoro, 2015).

4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan ekstrak awal, yaitu campuran dari berbagai senyawa menjadi fraksi-fraksi. Teknik pemisahan tunggal sulit memisahkan senyawa tunggal, sehingga pemisahan ekstrak awal ke dalam bentuk fraksinya perlu dilakukan berdasarkan polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Fraksinasi ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, untuk memperoleh ekstrak yang lebih murni, serta fraksinasi merupakan tahap yang perlu dilakukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan senyawa metabolit sekunder tunggal (Nugroho, 2017).

Fraksinasi dapat dilakukan melalui beberapa metode, diantaranya metode ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom, kromatografi vakum cair, *solid-*

phase extraction, size-exclusion chromatography (Mukhriani, 2014). Metode ekstraksi cair-cair digunakan pada penelitian ini untuk proses fraksinasi dengan bantuan corong pisah. Ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kelarutan pada dua jenis pelarut yang berbeda yang tidak saling bercampur. Jika analit yang digunakan adalah pelarut anorganik, maka pelarut yang digunakan adalah pelarut organik, dan sebaliknya (Khamidinal, 2016).

5. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan setiap spesies memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan (*unpaired electrone*) dalam suatu orbital dan mampu berada secara independen yang dilambangkan dengan *dot* radikal (•) (Santoso, 2016). Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga tidak stabil dan sangat reaktif mencari pasangannya dengan mengikat elektron dari molekul atau sel lain disekitarnya (Ramadhan, 2015).

Sumber radikal bebas yang berada dalam tubuh manusia dapat berasal dari sumber endogen (dari dalam tubuh) dan sumber eksogen (dari luar tubuh). Sumber endogen yaitu berasal dari proses metabolik yang normal dalam tubuh manusia, diantaranya proses

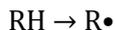
oksidasi makanan di mitokondria, sel darah putih seperti neutrofil, oksidasi xantin, reaksi yang melibatkan besi dan logam lain, autooksidasi, *respiratory burst*, oksidasi enzimatis, serta olahraga. Adapun sumber eksogen dapat berasal dari penipisan lapisan ozon, sinar UV, pencemaran udara, sumber radiasi, asap rokok, toksin, bahan kimia, beberapa obat seperti anastesi dan pestisida mikroorganisme yang patologik, serta pelarut yang digunakan dalam industri (Ramadhan, 2015). Pada umumnya molekul besar seperti DNA (pembawa gen), protein, serta lipid yang diikat oleh radikal bebas. Akibat adanya serangan radikal bebas, suatu sel dapat mengalami kerusakan atau mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Oksigen pada awalnya dianggap sebagai pusat radikal pada molekul radikal bebas, yang disebut spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*, ROS), tetapi spesies nitrogen reaktif (*Reactive Nitrogen Species*, RNS) juga termasuk subkelompok ini dan semuanya merupakan produk metabolisme seluler normal. ROS dan RNS dapat berperan sebagai spesies yang menguntungkan ketika konsentrasinya rendah hingga sedang. Namun, spesies akan berbahaya ketika konsentrasinya tinggi atau melampaui kemampuan

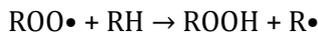
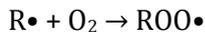
antioksidan untuk menyeimbangkannya. Diantara molekul ROS meliputi oksigen singlet, anion superoksida (O_2^-), radikal peroksil ($ROO\bullet$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan yang sangat reaktif, radikal hidroksil ($OH\bullet$). Adapun molekul RNS termasuk nitrat oksida ($\bullet NO$) dan nitrogen dioksida ($\bullet NO_2^-$) (Ifeanyi, 2018).

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas melibatkan tiga tahap (Santoso, 2016) yaitu:

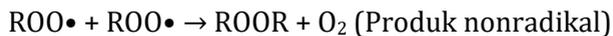
a. Inisiasi, yaitu pembentukan radikal bebas



b. Propagasi, yaitu reaksi berantai radikal bebas



c. Terminasi, yaitu pembentukan produk nonradikal



6. Antioksidan

a. Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menghambat kerusakan di dalam sel yang diakibatkan oleh radikal bebas, yang pada akhirnya memungkinkan menyebabkan banyak penyakit (Ramadhan, 2015).

b. Penggolongan dan Sumber Antioksidan

Sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami yaitu senyawa antioksidan yang diperoleh melalui proses alami, baik yang diproduksi oleh tubuh maupun ekstrak bahan alam seperti daun-daunan, buah, dan sayuran. Adapun antioksidan sintetik yaitu antioksidan yang diproduksi melalui reaksi kimia yang berfungsi untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi (Ramadhan, 2015).

Penggunaan antioksidan sintetik yang diijinkan, diantaranya butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), tert-butil hidroksi quinon (TBHQ), propil galat, dan α -tokoferol (Ramadhan, 2015). Namun, antioksidan sintetik dapat berimplikasi pada efek kesehatan dengan berkontribusi terhadap karsinogenisitas atau tumorigenitas. Penggunaan pada dosis yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan secara signifikan pada ginjal, hati, dan paru-paru. Antioksidan sintetik telah terbukti memiliki efek toksik pada sistem koagulasi darah dalam tubuh jika dikonsumsi secara oral (Shalaby dan Shanab, 2013).

c. Jenis dan Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan dapat dikategorikan menjadi tiga berdasarkan jenis dan mekanisme kerjanya, diantaranya yaitu:

1) Antioksidan primer (antioksidan endogenus)

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang dihasilkan dari proses di dalam tubuh (endogen) yang berupa enzim, meliputi enzim glutathion peroksidase (GSH-PX), glutathion reduktase (GSHR), katalase, dan superoksida dismutase (SOD). Antioksidan primer berfungsi dalam menghambat pembentukan radikal bebas baru dengan merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum bereaksi (Ramadhan, 2015). Suatu molekul dapat berperan sebagai antioksidan primer apabila mampu mendonasikan atom hidrogen secara cepat pada radikal bebas, menghasilkan radikal yang lebih stabil dibandingkan radikal bebas, atau dapat mengkorversi menjadi produk lain yang lebih stabil. Antioksidan primer disebut juga antioksidan pemutus rantai (*chain-breaking-antioxidant*) (Santoso, 2016).

2) Antioksidan sekunder (antioksidan eksogenus)

Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang tidak dihasilkan oleh dalam tubuh (eksogen) atau non-enzimatis, meliputi asam askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E), flavonoid, karotenoid. Antioksidan sekunder dapat diperoleh dari sayuran, buah, serta rempah-rempahan. Antioksidan sekunder bekerja secara preventif dengan menangkap senyawa radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Ramadhan, 2015).

3) Antioksidan tersier

Antioksidan tersier berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan akibat radikal bebas. Contoh antioksidan tersier misalnya metionin sulfoksidan reduktase, enzim yang berfungsi untuk memperbaiki DNA pada inti sel pada penderita kanker (Ramadhan, 2015).

7. Metode Analisa Antioksidan

Metode yang dapat digunakan untuk menganalisa antioksidan dengan pengujian secara *in vitro* yaitu:

a. Metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

DPPH banyak digunakan untuk menguji kemampuan senyawa untuk bertindak sebagai

peredam radikal bebas atau donor hidrogen, dan untuk menganalisis aktivitas antioksidan makanan. Beberapa tahun terakhir, metode DPPH telah digunakan untuk mengukur antioksidan dalam sistem biologis yang kompleks. Ukuran kapasitas antioksidan total membantu memahami sifat fungsional makanan (Shalaby dan Shanab, 2013).

Kelebihan metode DPPH diantaranya tekniknya efektif, mudah, tidak diperlukan pemisahan sampel, cepat untuk mempelajari profil ekstrak tanaman, serta potensi sampel dapat diketahui. Namun metode DPPH memakan waktu serta mahal (Santoso, 2016).

b. Metode TBA (*Thiobarbituric Acid*)

Metode TBA telah digunakan untuk memperkirakan peroksidasi lipid dalam membran dan sistem biologis (Shalaby dan Shanab, 2013). TBA akan bereaksi dengan MDA (malondialdehid) menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah pada panjang gelombang 535 nm. MDA terbentuk dari pemanasan hidroperoksida dan produk degradasi sekunder pada pH rendah. Metode TBA memiliki kelebihan, diantaranya sederhana dan relatif tinggi sensitivitasnya, sehingga sering digunakan dalam pengujian dengan sistem biologis.

Namun, angka TBA tidak langsung menunjukkan jumlah MDA atau pemecahan lipid hidroperoksida yang terbentuk secara oksidasi pada saat pengujian. Angka TBA sering disebut angka TBARS (*thiobarbituric acid reactive-substances*). Metode-metode TBA dapat memakan waktu karena tergantung pada oksidasi substrat yang dipengaruhi oleh suhu, tekanan, serta matriks. Metode TBA juga tidak praktis pada jumlah besar (Santoso, 2016).

c. Metode ABTS (*2,2'-azinobis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)*)

Metode ABTS telah digunakan untuk menyaring kemampuan relatif flavonoid dan fenolik dalam memulung radikal. ABTS adalah pilihan yang lebih baik daripada DPPH dan lebih sensitif daripada DPPH. Kelebihan metode ABTS yaitu dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda (tidak seperti DPPH, yang sensitif terhadap pH asam), sehingga berguna ketika mempelajari efek pH terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa dalam pelarut asam. ABTS berguna dalam menilai aktivitas antioksidan sampel dalam media yang berbeda, karena larut dalam pelarut berair dan organik. ABTS bereaksi lebih cepat dengan sampel dibandingkan

DPPH dalam larutan buffer berair (PBS), dan mencapai keadaan stabil dalam 30 menit. Namun harga reagen untuk metode ABTS mahal (Shalaby dan Shanab, 2013).

d. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metode FRAP digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan reduksi kompleks ion ferri dan *2,3,5-triphenyl-1,3,4-triaza-2-azoniacyclopenta-1,4-diene chloride* (disebut juga *2,4,6-tripyridyltriazine*, TPTZ) menjadi ion ferro pada pH rendah. Reduksi ion ferri dimonitor dengan mengukur perubahan absorbansi pada panjang gelombang 595 nm menggunakan *diode-array spectrophotometer*.

Kelebihan metode FRAP yaitu cepat, sederhana, murah, dan tidak memerlukan peralatan khusus. Namun, metode FRAP tidak dapat mendeteksi spesies yang bertindak dengan pendinginan radikal (transfer H), terutama kelompok SH yang mengandung antioksidan seperti tiol, sebagaimana glutathione dan protein (Santoso, 2016).

e. Metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Metode ORAC digunakan untuk menentukan kapasitas antioksidan dari buah dan sayuran. Dalam

metode ORAC, sampel ditambahkan ke generator radikal peroksid, *2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride* (AAPH) dan penghambatan aksi radikal bebas diukur menggunakan senyawa fluoresen, *B-phycoerythrin* atau *R-phycoerythrin*. Senyawa fenolik dan polifenolik merupakan kelas utama antioksidan alami yang terdapat dalam tanaman, makanan, dan minuman serta biasanya diukur menggunakan reagen Folin (Shalaby dan Shanab, 2013).

Metode ORAC menunjukkan pengukuran antioksidan yang sama baiknya dalam mengukur antioksidan yang memiliki fase jeda yang berbeda dan yang tidak memiliki fase jeda. Namun, pengukuran metode ORAC hanya pada rantai hidrofilik tetapi mengabaikan antioksidan lipofilik. Fluorometer dibutuhkan pada pengukuran ini. Suhu dapat menurunkan reproduktifitas, sehingga perlu adanya pengontrolan (Shalaby dan Shanab, 2013).

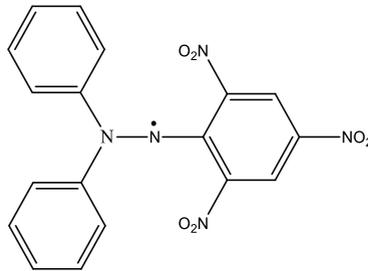
f. Metode CAA (*Cellular Antioxidant Activity*) Assay

Metode CAA merupakan metode yang secara biologis mempertimbangkan bioavailabilitas, stabilitas, retensi jaringan, dan reaksi antioksidan pada kondisi fisiologis. Prinsip metode CAA

merupakan pengujian berdasarkan sel (*cell based assay*) dengan prekursor suatu senyawa indikator *dichlorofluorencin* (DCFH) yang dioksidasi menjadi DCF (suatu senyawa fluoresen) ketika ada ROS seperti radikal peroksil ($\text{ROO}\bullet$). Ketika sampel mengandung antioksidan, antioksidan akan bereaksi dengan menghambat radikal peroksil untuk mengoksidasi DCFH, sehingga akan mencegah pembentukan DCF. Akibatnya, intensitas fluoresensi menurun karena adanya pengaruh penangkapan radikal oleh antioksidan (Santoso, 2016). Metode CAA dapat mendeteksi lebih akurat dalam mengukur kekuatan antioksidan dari seluruh makanan dan nutrisi. Namun biaya reagen yang digunakan mahal dan membutuhkan waktu yang lama dalam mengujinya (Santoso, 2016).

8. Metode DPPH

Aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak dapat diuji dengan mengukur kemampuan antioksidan dalam menangkap (mereduksi) menggunakan radikal sintetik DPPH (Gambar 2.9) (Santoso, 2016).



Gambar 2.9 Struktur DPPH (Santoso, 2016)

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) 517 nm pada absorbansi terkuat dengan warna ungu gelap. Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan suatu antioksidan mengakibatkan radikal bebas DPPH tereduksi dan adanya peredaman warna menjadi kuning diakibatkan dari berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi DPPH. Peredaman warna DPPH terjadi karena adanya radikal DPPH mengambil radikal hidrogen dari senyawa antioksidan untuk berpasangan yang mengakibatkan radikal bebas DPPH akan membentuk DPPH yang stabil. Kestabilan DPPH disebabkan karena elektron tidak dapat kembali beresonansi. Peredaman warna DPPH diukur menggunakan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi penurunan intensitas warna (Sayuti dan Yenrina, 2015).

9. Aktivitas Peredaman Radikal DPPH

Aktivitas peredaman radikal DPPH dinyatakan sebagai persentase inhibisi menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100$$

Dimana:

A_c = Nilai absorbansi kontrol (cm^{-1})

A_s = Nilai absorbansi sampel uji (cm^{-1})

Aktivitas peredaman radikal bebas dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang efektif dimana berkurangnya 50% aktivitas radikal DPPH yang diperoleh melalui grafik persentase inhibisi radikal bebas dengan konsentrasi sampel. Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan kemampuan ekstrak yang kuat untuk bertindak sebagai penangkapan radikal DPPH (Vasic, Stefanovic & Radojevic, 2012). Klasifikasi kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} ditunjukkan tabel 2.1 (Surfina, Nurhamidah & Handayani, 2017).

Tabel 2.1 Klasifikasi intensitas kekuatan antioksidan

Intensitas	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat Kuat	$IC_{50} < 50$
Kuat	$50 < IC_{50} < 100$
Sedang	$100 < IC_{50} < 150$
Lemah	$150 < IC_{50} < 200$
Sangat Lemah	$IC_{50} > 200$

10. Senyawa Metabolit Sekunder

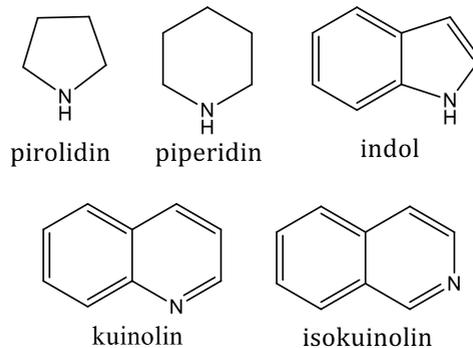
Metabolit sekunder merupakan senyawa berupa molekul-molekul kecil, mempunyai struktur yang bervariasi, bersifat spesifik (tidak semua organisme mengandung senyawa sejenis), setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Senyawa metabolit sekunder umumnya berfungsi untuk mempertahankan diri atau eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Ergina, Nuryanti & Pursitasari, 2014).

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen heterosiklik yang disintesis oleh organisme hidup dari asam amino dan farmakologi aktif (Ilyas, 2013). Alkaloid termasuk kelompok senyawa metabolit sekunder yang bersifat alkali. Senyawa alkaloid kebanyakan memiliki rasa yang sangat pahit (Raharjo, 2013).

Fungsi alkaloid pada tanaman lebih untuk menjaga kelangsungan hidup tanaman. Alkaloid diperkirakan dapat melindungi tanaman dari virus,

mikroorganisme maupun serangan serangga (Raharjo, 2013), serta melawan pertumbuhan tanaman lain didekatnya dengan senyawa yang bersifat alelopati (Kumoro, 2015). Kerangka dasar alkaloid dapat dilihat pada gambar 2.10.

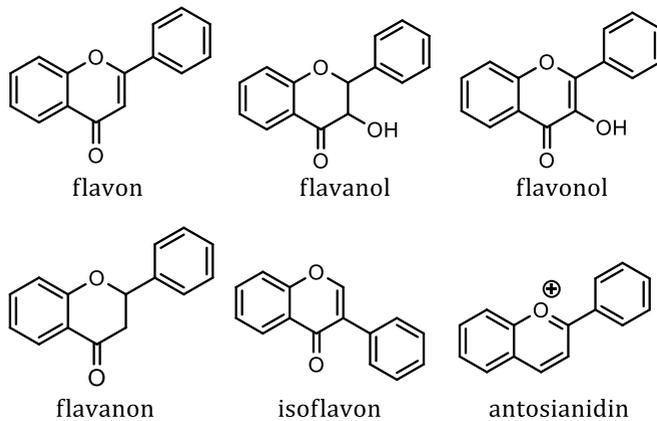


Gambar 2.10 Kerangka dasar alkaloid (Ilyas, 2013)

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki struktur dasar dua cincin aromatis dengan tiga atom C diantara cincin ($C_6-C_3-C_6$). Tiga atom C antar cincin membentuk cincin ketiga yang berupa heterosiklik O (Raharjo, 2013).

Berdasarkan struktur kerangka karbonnya, flavonoid dapat dibagi menjadi enam sub kelompok utama, yaitu flavon, flavonol, flavanol, flavanon, isoflavon, dan antosianidin (gambar 2.11).



Gambar 2.11 Struktur umum kelompok utama senyawa flavonoid (Raharjo, 2013)

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam yang ditemukan diberbagai tanaman serta terdistribusi pada bagian-bagian tanaman, seperti akar, batang, biji, buah, bunga, daun dan kulit kayu. Sebagian besar flavonoid merupakan senyawa pemberi warna pada buah, bunga dan daun. Senyawa flavonoid memberikan warna biru, kuning, merah dan ungu pada tanaman (Raharjo, 2013).

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang dapat larut dalam air. Flavonoid mampu meningkatkan kekebalan tubuh, serta bersifat antialergi, antikejang atau antispasmodik usus, antikanker, antimikroba, antioksidan, antiradang, antitrombosit, antivirus, penghambat pertumbuhan tumor, diuretik,

vasoprotektif, atau menurunkan tekanan dalam pembuluh darah, serta mencegah oksidasi LDL (Kumoro, 2015).

c. Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki sifat fisik seperti surfaktan, yang mampu membentuk busa walaupun dalam konsentrasi yang sangat rendah (Raharjo, 2013). Tanaman memproduksi saponin untuk melawan infeksi dari virus. Bagi manusia, saponin mempunyai hemolitik pada sel darah merah, melindungi dari serangan bakteri dan virus, dan membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Kumoro, 2015).

Saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar. Saponin akan membentuk misel ketika dikocok karena memiliki gugus polar dan nonpolar yang bersifat aktif dipermukaan. Pada struktur misel gugus polar mengarah keluar sedangkan gugus nonpolar mengarah kedalam, sehingga tampak seperti busa (Sangi *et al.*, 2008).

d. Triterpenoid dan Steroid

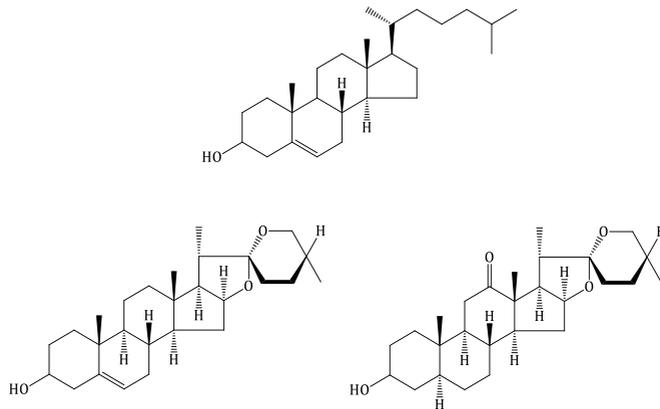
Triterpena merupakan kelompok terpenoid yang mempunyai keragaman kedua setelah diterpena. Triterpena dibentuk melalui siklisasi

squalena yang merupakan prekursor steroid. Siklisasi squalena menghasilkan terpenoid tetrasiklik dan pentasiklik. Triterpenoid tetrasiklik memiliki dua kerangka karbon yaitu lanosterol dan sikloartenol. Sedangkan triterpenoid pentasiklik memiliki tiga senyawa karbon utama, yaitu α -amirin, β -amirin, dan lupeol (Raharjo, 2013).

Triterpenoid pentasiklik seringkali ditemukan dalam bentuk saponin. Contoh senyawa triterpenoid saponin yaitu asam glisirizenat yang merupakan glikosida asam glisiretat dengan gula disakarida asam glukoronat. Adapun ginsenosida merupakan serial senyawa saponin triterpenoid tetrasiklik yang terdapat pada tanaman ginseng (*Panax ginseng*), yang mampu digunakan untuk meningkatkan stamina (Raharjo, 2013).

Steroid merupakan hasil modifikasi dari triterpenoid tetrasiklik. Struktur kolestrol dapat dianggap sebagai struktur dasar steroid. Steroid dapat ditemukan dalam bentuk saponin, diantaranya diosgenin dan hikogenin (gambar 2.12). Disogenin telah lama digunakan dalam mengatasi masalah menopause. Sedangkan hekogenin dikenal karena

hasil fermentasinya menghasilkan tequila (Raharjo, 2013).



Gambar 2.12 Struktur kolestrol dan beberapa saponin steroid (Raharjo, 2013)

e. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan kelompok bahan alam yang memiliki sifat polar yang mempunyai ciri utama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua substituen hidroksil. Senyawa fenolik cenderung mudah larut dalam air (Ilyas, 2013). Senyawa fenol yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil pada cincin aromatik disebut senyawa polifenol (Nugroho, 2017).

f. Tanin

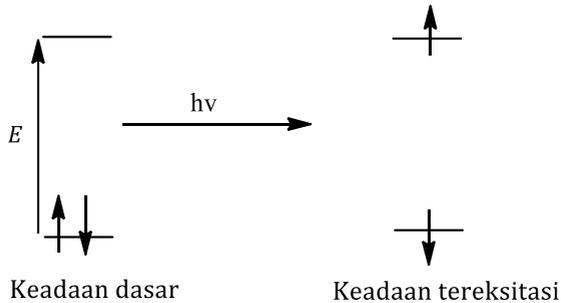
Tanin merupakan senyawa polifenolat yang dapat membentuk kompleks yang dapat balik

(*reversible*) dan tidak dapat balik (*irreversibel*) dengan polisakarida (*selulase, hemiselulase, pectin, dll*), protein, alkaloid, asam nukleat, atau mineral (Kumoro, 2015). Tanin memiliki karakteristik dengan adanya paling sedikit 12 gugus hidroksil atau gugus fenil yang dapat berfungsi untuk mengikat protein (Nugroho, 2017). Tanin dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis dapat dengan mudah dipecah atau dihidrolisis menjadi molekul yang sederhana yang larut menggunakan perlakuan dengan asam. Tanin terkondensasi akan menghasilkan produk kompleks yang tidak larut dengan perlakuan asam (Raharjo, 2013).

11. Spektroskopi UV-Vis

Struktur elektronik dari suatu molekul dapat mempengaruhi serapan cahaya dalam spektrum ultraviolet dan visibel. Spektrum ultraviolet dan visibel senyawa-senyawa organik dihasilkan oleh transisi antara tingkat-tingkat energi elektron serta elektron dari orbital energi rendah dalam keadaan dasar dinaikkan ke orbital dengan energi lebih tinggi. Orbital penuh biasanya akan terjadi transisi ke orbital yang sebelumnya kosong (gambar 2.13) untuk menghasilkan

keadaan tereksitasi singlet (Williams dan Fleming, 2013).



Gambar 2.13 Transisi dari orbital penuh ke orbital yang sebelumnya kosong

Pelarut yang paling sering digunakan dalam analisis spektroskopi ultraviolet yaitu etanol 95% (etanol absolut komersial yang mengandung residu benzen yang dapat menghasilkan serapan pada daerah ultraviolet). Etanol 95% merupakan pelarut yang baik, murah, dan tidak terdeteksi pada panjang gelombang di atas 210 nm. Pelarut yang sering digunakan dan panjang gelombang minimum yang harus digunakan jika memakai pelarut dalam sel 1 cm ditunjukkan pada tabel 2.2 (Williams dan Fleming, 2013).

Penyerapan sinar UV dan sinar tampak umumnya diperoleh dari eksitasi elektron-elektron ikatan. Radiasi yang diserap oleh sampel ditentukan dari perbandingan intensitas sinar yang diteruskan dengan yang diserap.

Serapan terjadi jika energi radiasi atau foton yang mengenai sampel sama dengan energi yang diperlukan untuk perubahan tenaga. Penurunan kekuatan radiasi dapat terjadi dengan adanya pemantulan dan penghamburan cahaya (Rohman, 2012).

Tabel 2.2 Beberapa pelarut yang digunakan pada spektroskopi ultraviolet

Pelarut	Panjang gelombang minimum untuk sel 1 cm (nm)
Asetronitril	190
Air	191
Sikloheksana	195
Heksana	201
Metanol	203
Etanol	204
Eter	215
Diklorometana	220
Kloroform	237
Karbon tetraklorida	257

Komponen-komponen spektrofotometer UV-Vis secara umum terdiri dari empat komponen utama, yaitu sumber radiasi (sinar), monokromator, sel (tempat) sampel dan detektor yang dihubungkan dengan printer (komputerisasi).

a. Sumber radiasi (sinar)

Radiasi umumnya dihasilkan dari material berupa pemanasan listrik atau sumber listrik

bertegangan tinggi. Tegangan listrik akan menyebabkan eksitasi elektron pada benda dan elektron kembali ke tingkat energi yang lebih rendah (dasar), sehingga akan mengeluarkan radiasi berupa emisi sejumlah energi tertentu. Energi radiasi emisi dan tingkat eksitasi inilah yang digunakan sebagai sumber radiasi (Sitorus, 2009).

Syarat sumber sinar yang ideal pada suatu instrumen spektrofotometer UV-Vis menurut Gandjar dan Rohman (2015) adalah:

- 1) Mampu mencakup semua kisaran pengukuran di daerah UV-Vis.
- 2) Mempunyai intensitas sinar yang kuat dan stabil pada keseluruhan kisaran panjang gelombang.
- 3) Intensitas sumber sinar tidak boleh bervariasi secara signifikan pada panjang gelombang yang berbeda.
- 4) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang lama.
- 5) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang singkat.

Lampu hidrogen (H) atau lampu deuterium (D) dapat digunakan sebagai sumber radiasi UV. Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV di panjang

gelombang 200-370 nm. Sedangkan lampu tungsten digunakan untuk daerah visible. Lampu tungsten mengemisikan sinar pada panjang gelombang 350-2.000 nm (Gandjar dan Rohman, 2015).

b. Monokromator

Monokromator merupakan bahan optik berbentuk prisma yang berfungsi untuk mengurai sinar polikromatis (banyak panjang gelombang) menjadi monokromatis sesuai yang diinginkan (Sitorus, 2009).

c. Tempat (sel) sampel

Tempat sampel (sel penyerap) dikenal dengan kuvet. Kuvet ada yang berbentuk kotak dan berbentuk silinder (tabung). Bahan kuvet dapat berupa quartzs dan gelas biasa. Quartzs digunakan untuk sinar UV, sedangkan gelas biasa digunakan untuk sinar tampak, namun quartzs lebih baik (Sitorus, 2009).

d. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengubah tenaga radiasi menjadi arus listrik atau peubah panas lainnya dan biasanya terintegrasi dengan pencatat (printer). Tenaga radiasi yang diubah menjadi arus

listrik akan mencatat secara kuantitatif tenaga cahaya tersebut (Sitorus, 2009).

Secara umum, untuk mempelajari berkas radiasi secara kuantitatif yang dikenakan pada suatu cuplikan melalui perbandingan intensitas sinar mula-mula (I_0) dengan sinar yang dilewatkan dari cuplikan (I_t). Ada tiga kemungkinan yang terjadi yaitu:

- a. $I_t > I_0$, artinya sebagian sinar diserap dan sebagian lagi dilewatkan.
- b. $I_0 = I_t$, artinya tidak ada sinar yang diserap atau semua ditransmisikan (dilewatkan).
- c. $I_t = 0$, artinya semua sinar diserap.

Kejadian 1 akan memberikan informasi sebagai dasar analisa baik kualitatif maupun kuantitatif, sedangkan kejadian 2 dan kejadian 3 tidak memberikan informasi. Penurunan intensitas sinar ($\Delta I = I_t - I_0$) dipengaruhi jenis pengabsorpsi (dasar analisa kualitatif) dan konsentrasi penyerap (dasar analisa kuantitatif) (Sitorus, 2009).

Lambert dan Beer merupakan ahli yang mempelajari aspek kuantitatif pada penyerapan radiasi elektromagnetik. Lambert mempelajari hubungan tebal sel terhadap penurunan intensitas sinar, sedangkan Beer mempelajari hubungan penurunan sinar dengan

konsentrasi. Persamaan matematik tentang hubungan antara penurunan intensitas sinar terhadap tebal sel (media) dan konsentrasi disebut hukum Lambert-Beer (Sitorus, 2009).

Penjabaran persamaan hukum Lambert-Beer dinyatakan:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad \text{atau} \quad A = a \cdot b \cdot C$$

Keterangan:

a = absorbtivitas ($L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$)

C = konsentrasi analit (g/L)

b = panjang sel/lebar kuvet (cm)

ϵ = absorbtivitas molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

B. Kajian Pustaka

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan beberapa tanaman yang dimanfaatkan sebagai tanaman herbal. Riset mengenai kandungan serta manfaat bagian-bagian tanaman ketapang telah banyak dilakukan. Salah satu bagian tanaman yang dimanfaatkan sebagai tanaman herbal yaitu daun.

Abdulkadir (2013) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH 0,3 mM dengan nilai IC_{50} aktivitas pembersihan radikal DPPH ($43,34 \mu g/ml$) dan potensi kekuatan mereduksi ($2512,89 \pm 13,47 \text{ mM Fe (II)/g}$). Kadar fenolik

total ekstrak etanol daun ketapang yaitu $285,77 \pm 4,83$ mg GAE/g dan kadar flavonoid total tertinggi yaitu $59,95 \pm 3,41$ mg QAE/g. Hasil ini menunjukkan bahwa daun ketapang merupakan sumber fenolik dan flavonoid yang baik dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

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 penghambatan radikal dari ekstrak daun metanol dari dua varietas berbeda *Terminalia catappa* L. 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. Hasil ini menunjukkan bahwa daun ketapang merupakan sumber antioksidan alami yang baik.

Aktivitas antioksidan pada daun *Terminalia catappa* L. juga dilakukan oleh Chukwuma (2015). Menurut hasil penelitiannya, ekstrak daun metanol 80% memiliki persentase penghambatan tertinggi (73,42%) dari radikal bebas DPPH dibandingkan air dan etanol 95% pada konsentrasi 0,5 ml/ml. Ekstrak daun etanol memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah (10,00 mg/ml) dibandingkan standar asam askorbat (12,45 mg/ml).

Hasil penelitian Chukwuma (2015) didukung dengan penelitian Aldo Sahala dan Soegihardjo (2012) yang melaporkan bahwa fraksi air dari ekstrak metanol daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH 0,4 mM dengan nilai IC_{50} $34,071 \pm 0,424 \mu\text{g/ml}$. Senyawa pembanding yang digunakan oleh Aldo Sahala dan Soegihardjo (2012) yaitu rutin dengan nilai IC_{50} $5,798 \mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian Chukwuma (2015) serta Aldo Sahala dan Soegihardjo (2012) menunjukkan bahwa ekstrak awal metanol memiliki kekuatan antioksidan yang lebih besar dibandingkan fraksi airnya.

Aktivitas antioksidan juga terdapat pada genus *Terminalia* lainnya. Vikas Kumar *et al.* (2017) melaporkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi pelarut yang berbeda (kloroform, etil asetat, n-butanol dan fraksi berair) pada *Terminalia arjuna* yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar $5,8 \mu\text{g/ml}$ (ekstrak etanol), $17,5 \mu\text{g/ml}$ (fraksi kloroform), $5,7 \mu\text{g/ml}$ (fraksi etil asetat), $4,8 \mu\text{g/ml}$ (fraksi n-butanol), dan $11,8 \mu\text{g/ml}$ (fraksi berair). Adapun standar yang digunakan yaitu asam askorbat dengan nilai IC_{50} sebesar $5,1 \mu\text{g/ml}$. Senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan yaitu asam ellagic, asam galat, apigenin, epicatechin, glukosa 1-O- β -galloyl, luteolin, dan kuersetin. Chandel *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa

tanaman *Terminalia bellerica* pada ekstrak etanol beserta fraksinasinya memiliki aktivitas menangkap radikal bebas DPPH dengan nilai masing-masing 7,16 µg/ml (ekstrak etanol), 20,41 µg/ml (fraksi kloroform), 6,44 µg/ml (fraksi etil asetat), 7,58 µg/ml (fraksi n-butanol), dan 41,18 µg/ml (fraksi air).

Menurut penelitian diatas, daun dari keluarga *Terminalia* memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder dan memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian diatas rata-rata menggunakan daun yang masih segar. Pada penelitian ini digunakan daun gugur ketapang yang diduga mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini, fraksi n-heksana daun ketapang digunakan sebagai sampel uji. Fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) diduga mengandung senyawa metabolit sekunder dan dimungkinkan berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam fraksi n-heksana daun gugur ketapang diharapkan dapat digunakan sebagai obat antibiotik yang mampu mengurangi dampak karsinogenisitas atau tumorigenitas dari antioksidan sintesis.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian yang dilakukan peneliti merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Untuk mencapai tujuan penelitian, dilakukan tahapan penelitian yaitu penyiapan simplisia daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.), ekstraksi simplisia, fraksinasi ekstrak kasar, penapisan fitokimia, serta uji aktivitas antioksidan. Penelitian ini juga mengukur kadar steroid dari daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat dan waktu penelitian sebagai berikut:

1. Pengambilan simplisia daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) dilakukan di lingkungan Kampus II, UIN Walisongo Semarang pada pagi hari.
2. Pengujian simplisia daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) mulai dari penyiapan simplisia, ekstraksi simplisia, fraksinasi ekstrak, penapisan fitokimia, uji kadar steroid, serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan di Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Walisongo Semarang.

C. Sampel dan Populasi Penelitian

Sampel daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) diperoleh di lingkungan Kampus II, UIN Walisongo Semarang. Sampel selanjutnya dikeringkan dan dibuat serbuk.

D. Alat

Alat-alat yang dibutuhkan pada penelitian ini diantaranya:

1. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dibutuhkan gunting untuk memotong daun ketapang kering (simplisia). Simplisia dibuat serbuk menggunakan blender (*Niko*).

2. Maserasi

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

3. Evaporasi

Proses evaporasi maserat simplisia dan fraksi n-heksana daun gugur ketapang dilakukan menggunakan *vacuum rotary evaporator (DLAB RE100-Pro)*.

4. Fraksinasi

Ekstrak kasar simplisia difraksinasi menggunakan corong pisah, serta dibutuhkan klem dan statif sebagai penyangga.

5. Penapisan Fitokimia

Pelaksanaan penapisan fitokimia dibutuhkan alat-alat gelas, seperti pipet tetes, tabung reaksi, gelas beker, gelas ukur, pengaduk gelas, pembakar bunsen, plat tetes, dan rak.

6. Uji Kadar Steroid

Pengujian kadar steroid dibutuhkan seperangkat pembakar bunsen, kaki tiga penyangga, serta kawat kasa sebagai alat pemanas. Alat-alat gelas seperti gelas beker, pengaduk gelas, corong gelas, serta corong pemisah. Oven (*Memmert*) untuk mengeringkan sampel.

7. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dibutuhkan kotak kardus sebagai tempat reaksi DPPH dan sampel uji dan menciptakan ruangan gelap. Selanjutnya diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Orion Aquamate 8000*) untuk mengetahui nilai absorbansi sampel uji.

E. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini diantaranya:

1. Simplisia

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.).

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak simplisia yaitu etanol 96% teknis, n-heksana teknis, dan aquades.

3. Penapisan Fitokimia

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji fitokimia adalah H_2SO_4 2 M, H_2SO_4 pekat, kloroform, HCl pekat, asetat anhidrat, serbuk Mg, $FeCl_3$, ammoniak 10%, tembaga asetat, reagen Mayer, reagen Dragendorff, HCl 2 N, kertas saring dan aluminium foil.

4. Uji Kadar Steroid

Pengujian kadar steroid dibutuhkan larutan asam klorida 0,5 N, etil asetat, serta amil alkohol pekat.

5. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dibutuhkan larutan DPPH, larutan fraksi n-heksana daun gugur ketapang, larutan kuersetin dan larutan asam askorbat sebagai senyawa pembanding, serta etanol absolut.

F. Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini diawali dengan penyiapan simplisia. Simplisia kemudian diekstraksi. Hasil ekstraksi selanjutnya dievaporasi, sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental selanjutnya dikeringkan.

Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan.

1. Penyiapan Sampel

Tahap awal dilakukan pengumpulan daun gugur ketapang yang diambil di kampus II UIN Walisongo Semarang. Pengotor pada daun gugur ketapang dicuci dengan air mengalir. Daun diperkecil ukurannya dengan cara dipotong-potong menggunakan gunting. Daun gugur dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang tanpa terpapar sinar matahari langsung. Daun yang telah kering (simplisia) dihaluskan dengan *blender*. Serbuk simplisia diangin-anginkan kembali hingga kering. Serbuk simplisia dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan pada suhu ruang tanpa terpapar sinar matahari langsung (Garcia *et al.*, 2012).

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gugur Ketapang

Serbuk simplisia ditimbang dua kali dengan neraca analitik masing-masing sebanyak 500 gram. Hasil timbangan masing-masing dimasukkan kedalam toples kaca. Serbuk simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% hingga 3-5 cm diatas serbuk simplisia. Tutup toples kaca dengan rapat dan diamkan selama 24 jam.

Campuran disaring dan hasil maserasi ditampung di toples kaca. Residu diremaserasi hingga diperoleh

ekstrak cair yang bening. Seluruh hasil maserasi (maserat) dikumpulkan, lalu diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator*, sehingga dihasilkan ekstrak kental. Hasil ekstrak ditimbang untuk dihitung rendemennya.

3. Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair. Ekstrak kental etanol daun gugur ketapang didispersi dalam 100 ml campuran air panas dan etanol 96% dengan perbandingan 9:1. Campuran selanjutnya dimasukkan kedalam corong pemisah. Campuran kemudian dipartisi dengan menambahkan 150 ml n-heksana dan dikocok hingga homogen untuk memungkinkan pelarut melarutkan analit secara sempurna. Campuran selanjutnya didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan ekstrak air (lapisan bagian bawah) dipisahkan dengan lapisan fraksi n-heksana (lapisan bagian atas). Lapisan air direfraksinasi dengan pelarut n-heksana hingga tiga kali pengulangan (Madikizela *et al.*, 2014).

Fraksi n-heksana yang dihasilkan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, sehingga diperoleh fraksi n-heksana yang kental. Fraksi n-heksana selanjutnya ditimbang untuk dihitung

rendemennya. Fraksi n-heksana daun gugur ketapang disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C.

4. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi n-heksana daun gugur ketapang.

a. Alkaloid

1) Uji Mayer

1 ml sampel ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Terbentuknya endapan berwarna kuning menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011).

2) Uji Dragendorff

1 ml sampel ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff. Terbentuknya endapan jingga hingga merah menunjukkan adanya alkaloid (Mangela *et al.*, 2016; Tiwari *et al.*, 2011).

b. Flavonoid

1) Uji Shinoda

1 ml larutan sampel ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl pekat. Terbentuknya larutan berwarna jingga, merah

muda, atau merah menunjukkan adanya flavonoid (Mangela *et al.*, 2016).

2) Uji Timbal Asetat

1 ml larutan timbal asetat ditambahkan ke dalam 5 ml larutan ekstrak. Terbentuknya flok-flok endapan berwarna putih menunjukkan adanya flavonoid (Kumoro, 2015).

c. Steroid dan Triterpenoid

1) Uji Libermann-Burchard

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

2) Uji Salkowski

1 ml sampel ditambahkan dengan beberapa tetes asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai terbentuknya warna merah pada lapisan bawah, sedangkan adanya triterpenoid ditandai

terbentuknya warna kuning pada lapisan bawah (Kumoro, 2015).

d. Saponin

1 ml ekstrak dan 1 ml etanol dituangkan dalam tabung reaksi. 20 ml akuades ditambahkan dan dikocok selama 15 menit. Terbentuknya buih yang stabil setinggi ± 1 cm selama kurang lebih 20 menit menunjukkan adanya saponin (Kumoro, 2015).

e. Fenol

1 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan 3 tetes FeCl_3 0,1%. Terbentuk larutan berwarna hijau, hijau biru, atau hitam kebiruan menunjukkan adanya fenol (Tiwari *et al.*, 2011).

f. Tanin

1 ml ekstrak ditambahkan 2 ml akuades di tabung tabung uji. Ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru-hijau menunjukkan adanya tanin (*catechic tannin*), sedangkan terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan tanin (*gallic tannin*) (Kumoro, 2015).

5. Uji Kadar Steroid

Pengujian kadar steroid dilakukan dengan menghidrolisis lima gram partikel daun ketapang kering dengan 50 ml larutan asam klorida 0,5 N melalui proses

perebusan selama 30 menit. Campuran disaring dan filtrat yang diperoleh dipindahkan ke dalam corong pemisah. Etil asetat ditambahkan, kemudian dikocok dengan baik. Campuran dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan etil asetat (lapisan atas) diambil dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100 °C selama 10 menit. Ekstrak kering yang diperoleh ditambahkan amil alkohol pekat dan dipanaskan untuk mengekstrak steroid. Campuran selanjutnya disaring menggunakan kertas saring yang telah ditimbang beratnya. Ekstrak dan kertas saring dikeringkan, lalu didinginkan, dan ditimbang bobotnya (Kumoro, 2015).

6. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang diuji menggunakan metode DPPH dengan mengacu metode yang dilakukan oleh Marinova dan Batchvarov (2011) disertai beberapa modifikasi.

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,06 mM dibuat dengan menimbang 2,4 mg DPPH dan dilarutkan dalam 100 ml etanol p.a.

b. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH 0,06 mM ditentukan nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-

Vis pada panjang gelombang 505-530 nm. Sehingga diperoleh panjang gelombang optimumnya dari nilai absorbansi tertinggi.

c. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 1 mg fraksi n-heksana ditimbang lalu dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a. Kocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 100 µg/ml (larutan induk). Larutan induk diencerkan untuk membuat larutan uji dengan variasi konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm dan 10 ppm.

d. Pengujian Larutan Uji

1,5 ml larutan DPPH 0,06 mM ditambahkan dalam 1,5 ml larutan ekstrak, lalu kocok hingga homogen. Campuran didiamkan selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang optimum.

e. Pengujian Larutan Pembanding

1) Asam Askorbat

Sebanyak 1 mg asam askorbat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a. lalu kocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 100 µg/ml (larutan induk). Larutan induk diencerkan untuk membuat larutan

berkonsentrasi 0,03125 ppm, 0,0625 ppm, 0,125 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm.

1,5 ml larutan DPPH 0,06 mM ditambahkan 1,5 ml larutan asam askorbat, lalu dikocok hingga homogen. Diamkan campuran selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang optimum.

2) Kuersetin

Sebanyak 1 mg kuersetin ditimbang lalu dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a. lalu kocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 100 µg/ml (larutan induk). Larutan induk diencerkan untuk membuat larutan berkonsentrasi 0,03125 ppm, 0,0625 ppm, 0,125 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm.

1,5 ml larutan DPPH 0,06 mM ditambahkan 1,5 ml larutan kuersetin, lalu dikocok hingga homogen. Diamkan campuran selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang optimum.

G. Analisis Data

1. Pengukuran Persentase Rendemen Ekstrak

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

2. Pengukuran Persentase Kadar Steroid

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak (g)}}{\text{massa simplisia kering (g)}} \times 100\%$$

3. Aktivitas Antioksidan

a. Persentase Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas DPPH

$$\% I = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

% I = Persentase penghambatan radikal bebas (%)

A_c = Nilai absorbansi kontrol (cm⁻¹)

A_s = Nilai absorbansi sampel uji (cm⁻¹)

(Vasic *et al.*, 2012)

b. Penentuan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC₅₀)

Konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) diperoleh dari mengplotan konsentrasi sampel (sumbu x) dan persentase penghambatan radikal bebas (sumbu y) melalui persamaan regresi linear. Bentuk persamaannya adalah:

$$y = ax + b$$

Nilai konsentrasi IC₅₀ (mg/L) sebagai nilai x dan nilai y sebagai persentase aktivitas antioksidan (% inhibisi). Nilai IC₅₀ diperoleh dari perhitungan saat aktivitas antioksidan sebesar 50% pada persamaan garis linier. Adapun nilai a dan b

diperoleh melalui penggambaran kurva x terhadap y (Huliselan *et al.*, 2015).

BAB IV

DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

A. Deskripsi Data

1. Penyiapan Simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini yaitu serbuk daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) kering sebanyak 1000 gram.

2. Ekstraksi

Ekstrak kental etanol yang diperoleh dari proses maserasi daun gugur ketapang sebanyak 109,32 gram dengan rendemen 10,932%. Selanjutnya ekstrak etanol difraksinasi dengan n-heksana melalui proses fraksinasi cair-cair. Fraksi kental n-heksana yang diperoleh yaitu 2,22 gram dengan rendemen 2,13%.

3. Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi pada fraksi n-heksana daun gugur ketapang yaitu steroid. Hasil penapisan fitokimia ditunjukkan pada tabel 4.1.

4. Kadar Steroid

Hasil uji kadar steroid menunjukkan bahwa daun gugur ketapang mengandung steroid sebesar 0,06% per bagian tanaman.

Tabel 4.1 Hasil penapisan fitokimia fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Jenis senyawa	Hasil	Ket.
Alkaloid		
a. Uji Mayer	Tidak terbentuk endapan kuning	-
b. Uji Dragendroff	Tidak terbentuk endapan jingga hingga merah	-
Flavonoid		
a. Uji Shinoda	Tidak terbentuk larutan jingga, merah muda atau merah	-
b. Uji Timbal Asetat	Tidak terbentuk endapan putih	-
Steroid		
a. Uji Libermann-Burchard	Terbentuk lapisan hijau	+
b. Uji Salkowski	Terbentuk lapisan merah	+
Triterpenoid		
a. Uji Libermann-Burchard	Tidak terbentuk lapisan merah	-
b. Uji Salkowski	Tidak terbentuk lapisan kuning	-
Saponin	Tidak terbentuk busa	-
Fenol	Tidak terbentuk larutan hijau, hijau biru, atau hitam kebiruan	-
Tanin	Tidak terbentuk warna biru-hijau (<i>cathechic</i>); atau Tidak terbentuk warna biru-hitam (<i>gallic</i>)	-

Keterangan:

+ = Mengandung senyawa metabolit sekunder

- = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

5. Aktivitas Antioksidan

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Panjang gelombang optimum larutan DPPH 0,06 mM ditentukan melalui pengukuran nilai absorbansi pada rentang 505-530 nm. Hasil pengukuran nilai absorbansi larutan DPPH disajikan pada lampiran 3. Berdasarkan hasil pengukuran, panjang gelombang optimum larutan DPPH 0,06 mM yaitu 517 nm dengan absorbansi $0,452 \text{ cm}^{-1}$.

b. Uji Aktivitas Larutan Uji

Penentuan aktivitas antioksidan larutan uji fraksi n-heksana daun gugur ketapang diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai persentase penghambatan (% I) terhadap radikal bebas DPPH dari fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.). Nilai konsentrasi larutan uji terhadap persentase penghambatan (% I) digunakan untuk mencari konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) yang ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Persentase penghambatan DPPH oleh fraksi n-heksana daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.)

[FH]	% I (Rata-Rata)	[IC ₅₀]
0,5	49,336 ± 0,361	
1	50,221 ± 0,181	
2	51,715 ± 0,378	0,670
4	54,369 ± 0,553	
8	58,186 ± 0,404	
10	60,122 ± 0,523	

Keterangan:

[FH] = Konsentrasi fraksi n-heksana (ppm)

% I = Persentase penghambatan (%)

[IC₅₀] = Konsentrasi penghambatan 50% (ppm)

Persamaan regresi linier yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi fraksi n-heksana terhadap persentase penghambatan (% I) radikal bebas DPPH adalah $y = 1,115x + 49,253$ dengan nilai $R^2 = 0,9836$.

c. Uji Aktivitas Larutan Pembanding

Larutan asam askorbat dan larutan kuersetin digunakan sebagai larutan pembanding dalam pada penelitian ini. Aktivitas antioksidan larutan asam askorbat dan kuersetin terhadap radikal bebas DPPH ditunjukkan pada tabel 4.3 dan tabel 4.4.

Tabel 4.3 Persentase penghambatan DPPH oleh asam askorbat

[AK]	% I (Rata-Rata)	IC ₅₀
0,03125	47,272 ± 1,437	0,113
0,0625	49,372 ± 0,239	
0,125	50,150 ± 0,300	
0,25	53,146 ± 0,396	
0,5	61,029 ± 3,320	
1	76,400 ± 0,448	

Keterangan:

[AK] = Konsentrasi asam askorbat (ppm)

% I = Persentase penghambatan (%)

[IC₅₀] = Konsentrasi penghambatan 50% (ppm)

Berdasarkan tabel 4.3, persamaan regresi linear antara asam askorbat terhadap persentase penghambatan (% I) radikal bebas DPPH yaitu $y = 29,876x + 46,611$ dengan nilai $R^2 = 0,9803$.

Tabel 4.4 Persentase penghambatan DPPH oleh kuersetin

[K]	% I (Rata-Rata)	IC ₅₀
0,03125	49,418 ± 0,492	0,076
0,0625	50,000 ± 0,194	
0,125	50,377 ± 0,282	
0,25	51,575 ± 0,326	
0,5	53,421 ± 0,356	
1	57,453 ± 0,192	

Keterangan:

[K] = Konsentrasi kuersetin (ppm)

% I = Persentase penghambatan

[IC₅₀] = Konsentrasi penghambatan 50% (ppm)

Berdasarkan tabel 4.4, persamaan regresi linear kuersetin terhadap persentase penghambatan radikal bebas DPPH yaitu $y = 8,1054x + 49,381$ dengan nilai $R^2 = 0,9877$.

B. Analisis Data

1. Penyiapan Simplisia

Daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Daun ketapang yang digunakan adalah daun yang masih berwarna kuning dan belum layu. Untuk meminimalisir variasi kandungan pada sampel, sampel daun ketapang diambil pada pagi hari dalam satu kompleks tempat.

Daun ketapang dicuci dengan penggosokan secara berulang menggunakan air bersih mengalir. Hal ini untuk membersihkan komponen asli sampel dari benda asing. Pencucian sampel bertujuan untuk menghindari gangguan dalam proses ekstraksi dan untuk menghindari kontaminasi atau pencemaran pada ekstrak yang diperoleh (Kumoro, 2015). Sehingga hasil ekstrak yang diperoleh merupakan senyawa metabolit sekunder yang benar-benar ada dalam sampel.

Sampel daun ketapang dikeringkan dalam ruangan tanpa terpapar sinar matahari secara langsung dengan cara diangin-anginkan. Pengeringan sampel bertujuan untuk menurunkan kadar air simplisia agar aman untuk proses penyimpanan (Kumoro, 2015). Sampel yang dikeringkan ternyata dapat meningkatkan persentase inhibisi pada uji aktivitas antioksidan dibandingkan dengan sampel yang masih segar. Menurut Luliana, Purwanti, dan Manihuruk (2016), sampel yang masih segar memiliki aktivitas terendah jika dibandingkan dengan sampel yang telah mengalami pengeringan. Hal ini berkaitan pada proses ekstraksi. Sampel segar memiliki dinding sel yang masih utuh sehingga metabolit sekunder akan sulit keluar yang menyebabkan penyarian kurang optimal yang akan berpengaruh pada rendemen yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian Hossain *et al.* (2010; dalam Luliana, Purwanti, & Manihuruk, 2016), rendahnya aktivitas antioksidan sampel segar karena masih tingginya kadar air yang menyebabkan efek delusi pada total senyawa antioksidan dan masih tingginya kelembaban sampel menyebabkan terjadinya proses degradasi enzimatik sehingga senyawa antioksidan hilang. Sampel dikeringkan dengan angin tanpa terpapar

matahari secara langsung agar senyawa bahan aktif dalam sampel tidak rusak akibat sinar ultra violet dalam sinar matahari. Pernyataan ini didukung melalui hasil riset Luliana, Purwanti, dan Manihuruk (2016). Pengerinan dengan cara angin memberikan persen inhibisi tertinggi (54,60%) terhadap radikal DPPH pada sampel daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dibandingkan pengerinan dengan cara oven (52,76%), matahari tidak langsung (49,19%), atau sinar matahari langsung (38,79%).

Simplisia daun ketapang kering dibuat menjadi serbuk menggunakan *blander*. Simplisia dibuat serbuk agar memperluas permukaan partikel, sehingga dapat meningkatkan perpindahan massa bahan aktif dari bagian tanaman menuju pelarut ketika proses ekstraksi. Pembuatan serbuk juga untuk memecah organ, jaringan dan struktur sel, agar bahan-bahan aktif yang berada dalam simplisia dapat berkontak langsung dengan pelarut (Kumoro, 2015).

2. Ekstraksi Simplisia

Teknik yang digunakan pada proses ekstraksi dalam penelitian ini yaitu maserasi. Pemilihan teknik ekstraksi maserasi karena maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang memungkinkan

terhindarnya kerusakan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang akan diekstrak yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014; Tiwari *et al*, 2011). Penelitian ini tidak menggunakan metode ekstraksi panas, karena metode ekstraksi panas hanya digunakan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang tahan terhadap panas. Ekstraksi maserasi lebih mudah dilakukan dan lebih efisien jika dibandingkan dengan metode ekstraksi dingin lainnya (perkolasi). Pada metode perkolasi, dibutuhkan pelarut yang lebih banyak, karena diperlukan pelarut yang selalu baru dalam mengekstrak hingga terekstrak sempurna (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

Etanol digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi karena etanol merupakan cairan penyari yang lebih efektif, serta kapang dan kuman sulit tumbuh, sehingga ekstrak yang dihasilkan dapat digunakan selama beberapa hari. Etanol juga tidak beracun dan netral, sehingga ekstrak yang dihasilkan dapat diaplikasikan sebagai senyawa obat. Pemekatan ekstrak etanol dibutuhkan panas yang sedikit, sehingga senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tidak rusak karena sifatnya yang termolabil (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015).

Etanol digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi sebelum proses fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana. Penggunaan etanol sebagai pelarut untuk ekstraksi awal dikarenakan etanol dapat mengekstrak senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi, salah satunya antioksidan. Menurut hasil penelitian Tasneem dan Narsegowda (2019), ekstrak etanol daun ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya fenol, flavonoid, tanin, steroid dan alkaloid.

Pelarut etanol yang digunakan pada proses maserasi menggunakan etanol 96% teknis yang telah didestilasi. Proses destilasi pada pelarut etanol sebelum maserasi bertujuan untuk mengurangi pengotor pada pelarut, sehingga pelarut etanol yang digunakan untuk maserasi lebih murni dan diharapkan lebih banyak senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstrak. Prinsip dari destilasi yaitu pemisahan campuran senyawa berdasarkan perbedaan titik didih. Senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah akan terpisah terlebih dahulu (Khamidinal, 2016).

Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam serbuk daun ketapang dengan pelarut etanol selama empat kali 24 jam. Untuk menghindari memadatnya

serbuk, maka dilakukan pengadukan setiap kali ekstraksi sebanyak tiga kali. Proses ekstraksi bertujuan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman agar senyawa fitokimia atau senyawa metabolit sekunder dapat terlepas dari simplisia (Azwanida, 2015).

Ekstrak etanol yang diperoleh selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan dari residu simplisia. Ekstrak etanol dipekatan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Pemekatan ekstrak bertujuan untuk menghilangkan cairan penyari pada proses maserasi. Nilai rendemen yang diperoleh pada ekstrak etanol daun gugur ketapang kental sebesar 10,932% dari berat kering simplisia.

3. Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun gugur ketapang yang diperoleh dari proses maserasi selanjutnya difraksinasi. Proses fraksinasi pada penelitian ini menggunakan teknik ekstraksi cair-cair dengan bantuan corong pemisah. Tujuan dari fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa dalam suatu ekstrak berdasarkan perbedaan kelarutan, sehingga menjadi fraksi dengan polaritas dan ukuran molekul yang sama. Tahap fraksinasi dikenal dengan istilah isolasi yang diarahkan dengan suatu uji

biologis/bioassay (*bioassay-guided isolation*) (Sarker dan Nahar, 2009). Hal ini karena fraksinasi merupakan langkah mencari senyawa aktif pada suatu produk alam.

Ekstrak etanol kental didispersi dengan campuran air dan etanol dengan perbandingan 9:1 terlebih dahulu sebelum difraksinasi. Proses fraksinasi dilakukan dengan memasukkan ekstrak etanol cair ke dalam corong pemisah, kemudian ditambahkan pelarut n-heksana untuk mengekstrak senyawa analit. Pelarut n-heksana bersifat nonpolar, sehingga senyawa yang cenderung nonpolar yang berada dalam ekstrak etanol dapat terekstrak dengan pelarut n-heksana. Hasil fraksinasi akan terbentuk dua lapisan. Lapisan atas merupakan lapisan n-heksana, sedangkan lapisan bawah merupakan lapisan air. Lapisan n-heksana diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi n-heksana yang kental. Fraksi n-heksana yang diperoleh berwarna kuning dengan rendemen 2,13%.

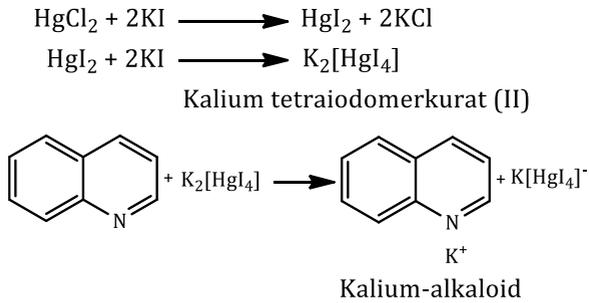
4. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu sampel. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, fraksi n-heksana daun gugur

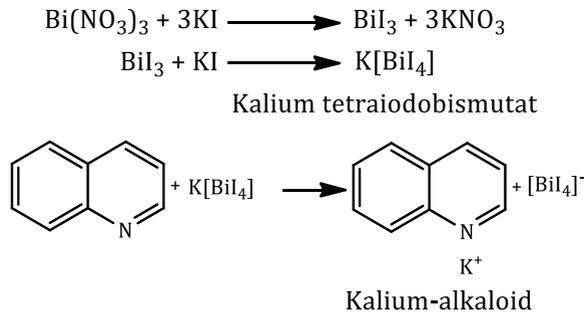
ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid.

a. Alkaloid

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan melalui uji Mayer dan uji Dragendorff. Adanya alkaloid pada uji Mayer akan terbentuk endapan kuning karena adanya reaksi antara atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada senyawa alkaloid dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) melalui ikatan kovalen koordinasi membentuk senyawa kompleks kalium-alkaloid (gambar 4.1). Kalium tetraiodomercurat (II) terbentuk dari penambahan kalium iodida yang berlebih pada larutan merkuri (II) iodida. Adanya alkaloid pada uji Dragendorff akan terbentuk endapan jingga hingga kemerahan. Terbentuknya endapan karena reaksi antara atom nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodobismutat (gambar 4.2). Kalium tetraiodobismutat terbentuk dari larutan bismut (III) iodida yang ditambahkan kalium iodida yang berlebih (Ergina, Nuryanti, & Pursitasari, 2014).



Gambar 4.1 Reaksi uji Mayer



Gambar 4.2 Reaksi uji Dragendorff

b. Flavonoid

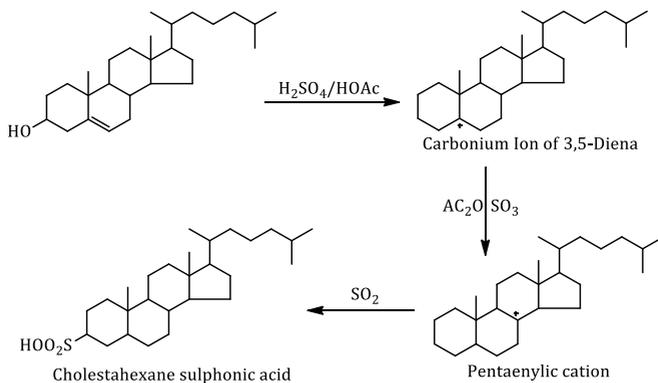
Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Pada pengujian flavonoid, fraksi n-heksana diidentifikasi dengan uji shinoda dan uji timbal asetat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid tidak terdapat pada fraksi n-heksana. Hasil ini menunjukkan bahwa flavonoid

tidak dapat larut dalam pelarut n-heksana (nonpolar). Flavonoid dimungkinkan terekstrak pada pelarut polar, karena adanya gugus hidroksil pada struktur flavonoid. Semakin banyak suatu senyawa memiliki gugus hidroksil, maka semakin besar tingkat kelarutan dalam air atau bersifat polar (Ergina, Nuryanti, & Pursitasari, 2014).

c. Steroid dan Triterpenoid

Identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan uji Libermann-Burchard dan uji Salkowski. Pada uji Libermann-Burchard, asam asetat anhidrat ditambahkan ke sampel untuk mengekstraksi kolesterol, memastikan media bebas air, sehingga pada penambahan asam asetat akan menghasilkan warna (Anggraini dan Nabillah, 2018). Perbedaan gugus pada atom C-4 menyebabkan perbedaan warna yang terbentuk pada uji steroid dan triterpenoid (Habibi, Firmansyah, & Setyawati, 2018). Hasil uji menunjukkan terbentuk lapisan berwarna hijau yang mengonfirmasi bahwa fraksi n-heksana mengandung steroid. Adapun pada uji Salkowski, asam sulfat pekat ditambahkan ke sampel. Penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk memutus ikatan ester lipid pada sampel (Mamuaja, 2017). Fraksi n-heksana

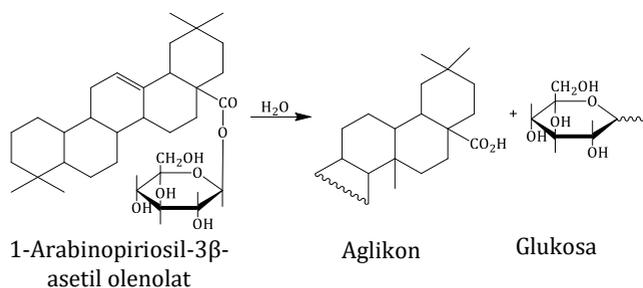
mengalami perubahan warna menjadi merah yang menunjukkan bahwa fraksi n-heksana mengandung steroid. Steroid merupakan senyawa yang cenderung bersifat nonpolar, sehingga dapat tertarik pada fraksi n-heksana. Hasil ini sesuai dengan dasar '*like dissolve like*'. Adanya steroid pada fraksi n-heksana menunjukkan bahwa proses fraksinasi dapat memisahkan senyawa dari ekstrak awal menjadi ekstrak yang lebih murni (Nugroho, 2017) berdasarkan perbedaan kelarutannya. Ekstrak awal daun ketapang, yaitu ekstrak etanol diketahui mengandung fenol, flavonoid, tanin, steroid dan alkaloid (Tasneem dan Narsegowda, 2019). Adapun menurut tabel 4.1, steroid merupakan satu-satunya senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi.



Gambar 4.3 Mekanisme reaksi uji steroid (Habibi, Firmansyah, & Setyawati, 2018)

d. Saponin

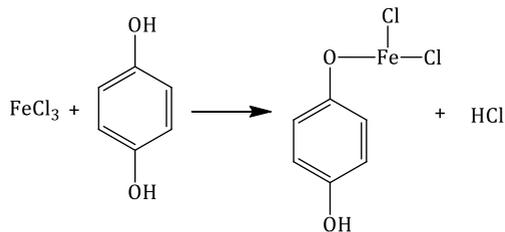
Senyawa saponin memiliki sifat khas yaitu memiliki kemampuan membentuk buih dalam air setelah pengocokan karena adanya glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, Suryanti, dan Suyono, 2005). Buih terbentuk karena adanya gugus hidrofob yang berikatan dengan udara dan gugus hidrofil yang berikatan dengan air. Pada struktur misel, gugus polar mengarah keluar sedangkan gugus nonpolar mengarah ke dalam. Penambahan senyawa asam bertujuan untuk menstabilkan gugus hidrofil untuk membentuk buih yang stabil (Simaremare, 2014). Berdasarkan hasil uji, saponin tidak terdapat pada fraksi n-heksana daun gugur ketapang, karena tidak terbentuk buih saat pengocokan.



Gambar 4.4 Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana, Suryanti, dan Suyono, 2005)

e. Fenol

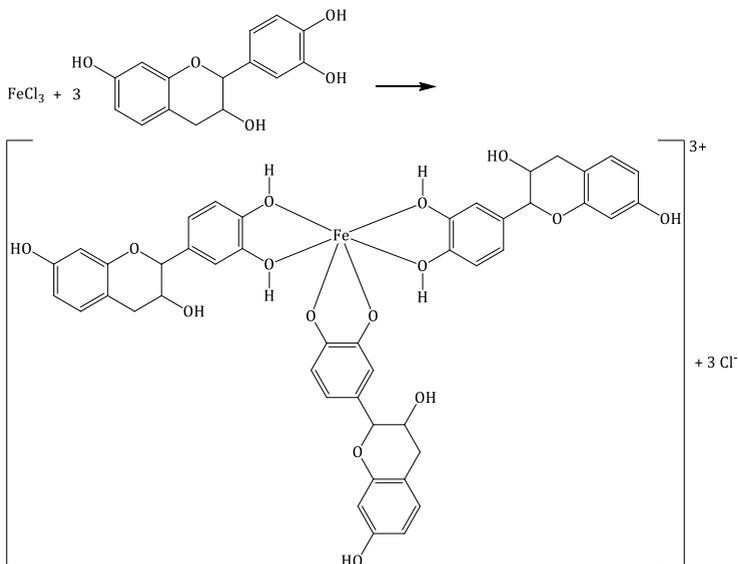
Identifikasi senyawa fenol dilakukan dengan mereaksikan fraksi n-heksana dengan FeCl_3 0,1%. Pengujian fenol menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk larutan berwarna hijau, hijau biru, atau hitam kebiruan. Terbentuknya warna pada identifikasi fenol disebabkan karena adanya salah satu reaksi gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol hidrokuinon dengan FeCl_3 (gambar 4.5).



Gambar 4.5 Reaksi fenol hidrokuinon dengan FeCl_3

f. Tanin

Hasil identifikasi tanin pada fraksi n-heksana menunjukkan hasil negatif, karena tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan larutan FeCl_3 pada sampel fraksi n-heksana. Adanya tanin terkonfirmasi jika terjadi perubahan warna karena adanya reaksi FeCl_3 dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin (gambar 4.6) (Sangi *et al.*, 2008).



Gambar 4.6 Reaksi tanin dengan FeCl_3 (Ergina, Nuryanti, & Pursitasari, 2014)

5. Kadar Steroid

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa sampel fraksi n-heksana daun gugur ketapang mengandung senyawa steroid. Penentuan kadar steroid dilakukan dengan menghidrolisis daun gugur ketapang dengan larutan asam klorida 0,5 M melalui proses perebusan. Proses hidrolisis dalam suasana asam bertujuan untuk mengubah bentuk glikosida dalam daun ketapang menjadi aglikon (Auliawan dan Cahyono, 2014). Filtrat hasil hidrolisis selanjutnya dipartisi menggunakan corong pemisah dengan menambahkan

etil asetat. Proses partisi bertujuan untuk memisahkan suatu komponen berdasarkan kepolarannya. Etil asetat akan mengikat senyawa yang bersifat semipolar. Lapisan etil asetat lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 100 °C. Pengeringan bertujuan untuk menghilangkan pelarut etil asetat sehingga akan diperoleh ekstrak keringnya. Ekstrak kering yang diperoleh ditambahkan amil alkohol pekat, dengan tujuan mengekstrak steroid dari ekstrak kering. Hasil uji menunjukkan bahwa kadar steroid dalam daun ketapang sebesar 0,06% dari bagian tanaman. Sehingga kadar steroid yang terkandung pada daun ketapang kering yaitu 0,006 mg/g.

Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) ternyata memiliki kadar steroid yang lebih kecil jika dibandingkan pada daun yang lain. Pada daun kering *Prosopis juliflora* mengandung kadar steroid sebanyak $2,3 \pm 0,08$ mg/g (Preeti, Sharma, & Mala, 2017). Daun pepaya mengandung ≤ 68 mg/ml steroid melalui proses KLT (Cahyati *et al.*, 2017). Daun cemara natal (*Cupressus funebris*) mengandung 0,01% w/w (Suryelita, Etika, & Kurnia, 2017).

6. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang diuji menggunakan metode penangkapan

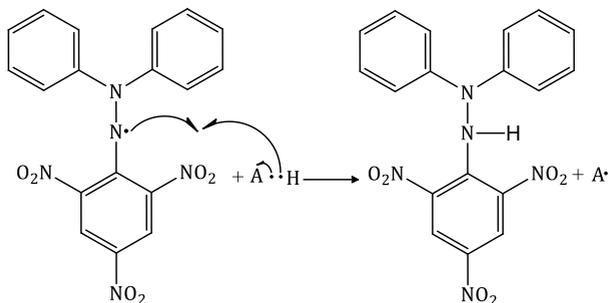
radikal bebas DPPH. Radikal DPPH yaitu sebuah senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil. Pemilihan metode DPPH karena tekniknya sederhana, efektif, reliabel, mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, cepat untuk mempelajari profil ekstrak tanaman, tidak diperlukan pemisahan sampel, serta potensi sampel dapat diketahui (Santoso, 2016; Sayuti dan Yenrina, 2015).

Penentuan panjang gelombang optimum dilakukan dengan menggunakan larutan DPPH yang dilarutkan dalam etanol absolut (*Merck*). Penggunaan etanol absolut bertujuan agar tidak ada serapan pengganggu dari senyawa-senyawa pada sampel. Penggunaan etanol juga tidak terdeteksi pada panjang gelombang di atas 210 nm (Williams dan Fleming, 2013).

Aktivitas antioksidan fraksi n-heksana diuji pada panjang gelombang 517 nm. Pemilihan panjang gelombang 517 nm merupakan hasil penentuan optimasi panjang gelombang DPPH, yaitu panjang gelombang hasil pengukuran nilai absorbansi tertinggi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Orion Aquamate 8000*). Hasil optimasi panjang gelombang maksimum DPPH tertera pada

lampiran 3. Pemilihan panjang gelombang 517 nm sebagai panjang gelombang optimum DPPH berdasarkan laporan Marinova dan Batchvarov (2011) pada DPPH 0,06 mM dengan durasi reaksi 30 menit.

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi n-heksana menggunakan radikal bebas DPPH dilakukan dengan mereaksikan larutan fraksi n-heksana dengan larutan DPPH. Hasil pengujian menunjukkan bahwa penambahan larutan fraksi n-heksana daun ketapang pada larutan DPPH mengakibatkan pemudaran warna ungu. Pemudaran warna ungu larutan DPPH menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH tereduksi menjadi DPPH-H. Proses reduksi juga teramati dengan penurunan nilai absorbansi larutan uji yang ditunjukkan melalui spektrofotometri UV-Vis. Semakin besar konsentrasi larutan fraksi n-heksana, maka semakin kecil nilai absorbansi yang diperoleh. Adapun reaksi terjadi akibat perubahan warna larutan DPPH akibat reaksi dengan antioksidan tertera pada gambar 4.7.

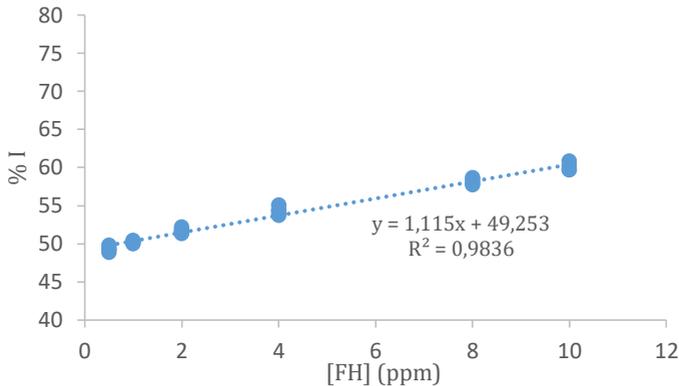


Gambar 4.7 Mekanisme reaksi reduksi radikal bebas DPPH dengan antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015)

Berdasarkan gambar 4.7, senyawa antioksidan memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga menjadi berpasangan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Akibatnya, radikal bebas DPPH akan membentuk DPPH yang stabil yang ditandai peredaman warna DPPH.

Hasil penangkapan radikal bebas DPPH dari fraksi n-heksana dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang efektif dimana berkurangnya 50% aktivitas radikal DPPH yang diperoleh melalui grafik persentase inhibisi radikal bebas dengan konsentrasi sampel. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka aktivitas antioksidannya semakin kuat (Vasic, Stefanovic & Radojevic, 2012). Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi fraksi n-heksana daun gugur ketapang yang dapat digunakan untuk meredam 50% konsentrasi larutan radikal bebas DPPH 0,06 mM yaitu 0,670 ppm.

Hasil ini diperoleh dari persamaan regresi linear dari grafik yang ditunjukkan pada gambar 4.8.

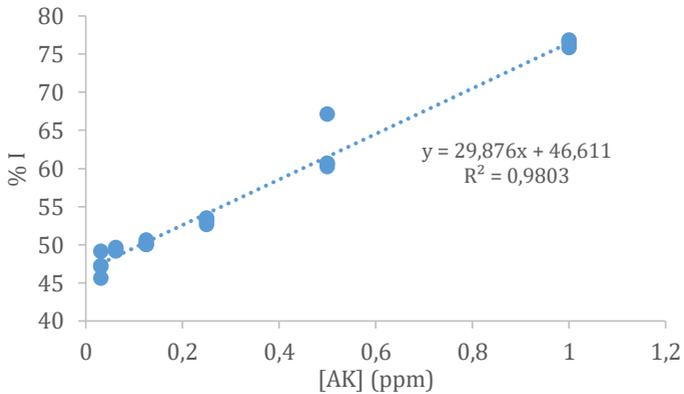


Gambar 4.8 Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang

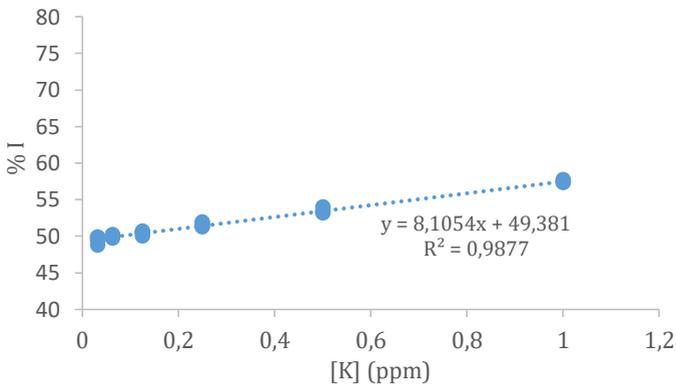
Senyawa pembanding yang digunakan untuk membandingkan aktivitas uji antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang yaitu asam askorbat (vitamin C) dan kuersetin. Asam askorbat termasuk antioksidan sekunder yang mempunyai kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Senyawa asam askorbat dapat melindungi tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam sel dan plasma (Sayuti dan Yenrina, 2015). Senyawa asam askorbat telah digunakan dalam penelitian Tasneem dan Narsegowda (2019) dan Omenna Emmanuel Chukwuma (2015) pada ekstrak

daun ketapang (*Terminalia catappa* L.). Penggunaan kuersetin sebagai senyawa pembanding karena molekul kuersetin memiliki lima gugus hidroksil sehingga dapat mereduksi DPPH (Sayuti dan Yenrina, 2015). Kuersetin diduga merupakan salah satu senyawa antioksidan yang terdapat pada genus *Terminalia* (Kumar *et al.*, 2017).

Hasil pengukuran persentase penghambatan radikal bebas DPPH oleh senyawa pembanding asam askorbat (lampiran 5) dan kuersetin (lampiran 6) diperoleh persamaan regresi aktivitas antioksidan asam askorbat adalah $y = 29,876x + 46,611$ dengan nilai IC_{50} sebesar 0,113 ppm (Gambar 4.9). Adapun persamaan regresi aktivitas antioksidan dari kuersetin yaitu $y = 8,1054x + 49,381$ dengan nilai IC_{50} sebesar 0,076 ppm (Gambar 4.10). Jika dibandingkan nilai IC_{50} fraksi n-heksana yang sebesar 0,670 ppm, fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} yang jauh lebih tinggi dibandingkan nilai IC_{50} senyawa pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa pembanding memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat untuk menghambat radikal bebas DPPH dibandingkan fraksi n-heksana.



Gambar 4.9 Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan asam askorbat



Gambar 4.10 Grafik persamaan regresi linier aktivitas antioksidan kuersetin

Berdasarkan grafik pada gambar 4.8, 4.9, dan 4.10, semakin besar konsentrasi larutan, maka semakin besar persentase penghambatan (% I) radikal bebas DPPH. Semakin besar konsentrasi larutan, maka semakin

banyak senyawa antioksidan yang mendonorkan hidrogen atau elektron ke radikal bebas DPPH yang ditunjukkan dengan peredaman warna DPPH. Semakin besar konsentrasi larutan, maka semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan pada pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis (lampiran 4 - lampiran 6).

Nilai R^2 (koefisien diferensial) yang ditunjukkan melalui grafik pada gambar 4.8, 4.9, dan 4.10 menunjukkan bahwa nilai R^2 yang diperoleh tidak bernilai 1. Hal ini disebabkan kurang akuratnya titik yang diperoleh dari hubungan nilai x (konsentrasi sampel) dan nilai y (persentase penghambatan). Ketidakakuratan titik pada grafik disebabkan karena perbedaan nilai absorbansi yang diperoleh pada pengukuran sampel uji pada konsentrasi yang sama yang berpengaruh pada penentuan nilai % I. Perbedaan nilai absorbansi pada konsentrasi larutan uji yang sama dimungkinkan disebabkan karena pada saat pemindahan campuran sampel uji dengan larutan DPPH dari tempat inkubasi menuju spektrofotometer UV-Vis, campuran sampel terpapar oleh cahaya yang berakibat pada penurunan nilai absorbansi secara tidak konstan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya pada sampel berbeda, fraksi n-heksana dapat meredam radikal bebas

DPPH. Fraksi n-heksana daun jambang (*Syzygium cumini* L. Skeels) memiliki nilai IC_{50} sebesar 52,435 $\mu\text{g/ml}$ dengan senyawa yang teridentifikasi triterpenoid dan steroid (Septiani, 2018). Fraksi n-heksana daun sirsak (*Annona muricata* Linn) memiliki nilai IC_{50} sebesar 30,1 ppm (Naspiah, Masruhim, & Fitriani, 2013).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, daun ketapang diketahui berpotensi sebagai antioksidan yang sangat kuat, karena dapat meredam radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} dibawah 50 ppm. Ekstrak etanol daun ketapang memiliki nilai IC_{50} sebesar 43,34 $\mu\text{g/ml}$ (Abdulkadir, 2013), 3,54-5,52 $\mu\text{g/ml}$ (Tasneem dan Narsegowda, 2019), 10,00 mg/ml (Chukwuma, 2015). Fraksi n-heksana daun gugur ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun ketapang berdasarkan penelitian Abdulkadir (2013), Tasneem dan Narsegowda (2019), serta Chukwuma (2015). Hal ini dimungkinkan fraksi n-heksana memiliki senyawa aktif yang lebih spesifik jika dibandingkan dengan ekstrak etanol yang merupakan ekstraksi pertama. Karena banyak senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol, kemungkinan senyawa yang memiliki aktivitas

antioksidan terhambatnya kemampuannya untuk menangkal radikal bebas karena adanya senyawa lain.

Berdasarkan penelitian Vikas Kumar *et al.* (2017) dan Shikha Rangra Chandel *et al.* (2019), suatu fraksi dapat memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak awal. Vikas Kumar *et al.* (2017) melaporkan bahwa fraksi etil asetat (IC_{50} , 5,7 $\mu\text{g/ml}$) dan fraksi n-butanol (IC_{50} , 4,8 $\mu\text{g/ml}$) *Terminalia arjuna* memiliki aktivitas yang kuat dibandingkan hasil ekstraksi awalnya yaitu ekstrak etanol (IC_{50} , 5,8 $\mu\text{g/ml}$). Shikha Rangra Chandel *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa fraksi etil asetat (IC_{50} , 6,44 $\mu\text{g/ml}$) *Terminalia bellerica* memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari ekstrak awalnya, yaitu ekstrak etanol (IC_{50} 7,16 $\mu\text{g/ml}$).

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, fraksi n-heksana daun gugur ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder steroid. Steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk jenis antioksidan hipofilik (larut dalam nonpolar) (Hardinistyas, Purwaningsih, & Handharyani, 2014). Aktivitas antioksidan dari steroid dimungkinkan akibat adanya gugus O-H pada struktur dasar steroid (Krisna, Santi, dan Rustini, 2014). Senyawa steroid dapat meredam

aktivitas radikal bebas DPPH menurut penelitian Krisna, Santi, dan Rustini (2014) pada daun gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb) dengan nilai IC₅₀ sebesar 4 ppm. Hasil penelitian Putra, Fachriyah, & Kusriani (2011), senyawa steroid yang diduga terkandung pada daun ketapang yaitu *norethisterone* dan *drostanolone propionate*.

Berdasarkan uji aktivitas antioksidan, fraksi n-heksana daun gugur ketapang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,670 ppm. Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, fraksi n-heksana daun gugur ketapang memiliki intensitas antioksidan yang sangat kuat. Steroid diduga golongan senyawa metabolit sekunder yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan fraksi n-heksana daun gugur ketapang. Kadar steroid yang ada di dalam daun gugur ketapang yaitu 0,06% per bagian tanaman. Berdasarkan hasil penelitian ini, daun gugur ketapang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dari daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) serta mengetahui potensi fraksi n-heksana sebagai sebagai antioksidan alami. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa:

1. Hasil penapisan fitokimia fraksi n-heksana daun gugur ketapang teridentifikasi mengandung senyawa metabolit sekunder steroid.
2. Kadar steroid dalam daun gugur ketapang yaitu sebesar 0,06% dari simplisia atau sekitar 0,006 mg/g pada simplisia kering.
3. Nilai IC₅₀ berdasarkan uji antioksidan daun gugur ketapang menggunakan metode DPPH yaitu 0,670 ppm dan termasuk antioksidan yang memiliki intensitas sangat kuat.

B. Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian ini yaitu dalam menguji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH agar dilakukan ditempat yang benar-benar gelap, agar nilai koefisien determinasi (R^2)

mendekati 1. Sebaiknya dilakukan proses isolasi, sehingga dapat diketahui senyawa aktif yang berperan sebagai senyawa antioksidan dalam daun gugur ketapang.

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.
- Anggraini, D.I. dan Nabillah, L.F. 2018. Activity Test of Suji Leaf Extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on in Vitro Cholesterol Lowering. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 21 (2): 54-58.
- Auliawan, R. dan Cahyono, B. 2014. Efek Hidrolisis Ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukoside. *Jurnal Sains dan Matematika*. 22 (1): 15-19.
- Azwanida, N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 4 (3): 1-6.
- Chandel, S.R., Kumar, V., Guleria, S., Sharma, N., Sourirajan, A., Khosla, P.K., Baumler, D.J. dan Dev, K. 2019. 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. *Pharmacognosy Journal* . 2019; 11(1): 94-101.
- Chole, P. dan Ravi, L. 2020. A Review on Medicinal Potential of *Terminalia catappa*. *International Journal of Green Pharmacy*. 14 (3): 229-234.
- Chukwuma, O.E. 2015. Antioxidative Activity of The Almond Leaves (*Terminalia catappa*). *International Journal of*

Nursing, Midwife and Health Related Cases. 1 (2): 29-40.

Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Ergina, Nuryanti, S. dan Pursitasari, I.D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia.* 3 (3): 165-172.

Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2015. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.

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.

Habibi, A.I., Firmansyah, R.A. dan Setyawati, S.M. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksana Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemistry Science.* 7 (1): 1-4.

Hardiningtyas, S.D., Purwaningsih, S. dan Handharyani, E. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 17 (1): 80-91.

Hidayat, R.S. dan Napitupulu, R.M. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo (Penebar Swadaya Grup).

- Huliselan, Y.M., Runtuwene, M.R.J. dan Wewengkang, D.S. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan *n*-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*. 4 (3): 2302-2493.
- Ifeanyi, O.E. 2018. A Review on Free Radicals and Antioxidants. *International Journal of Current Research in Medical Sciences*. 4 (2): 123-133.
- Ilyas, A. 2013. *Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Alauddin University Press.
- ITIS. 2021. *Standard Report Page: Terminalia catappa*. Diunduh di https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=27762#null tanggal 20 Mei 2021.
- Khamidinal, 2016. *Teknik Laboratorium Kimia*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Krisna, I.G.A.P.S.A., Santi, S.R. dan Rustini, N.L. 2014. Senyawa Steroid pada Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb) dan Aktivitasnya sebagai Antioksidan Terhadap Difenilpikril Hidrazil (DPPH). *Jurnal Kimia*. 8 (2): 251-256.
- Kumar, V., Sharma, N., Sourirajan, A., Khosla, P.K. dan Dev, K. 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 Medicines*. xxx: 1-7.
- Kumoro, A.C. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.

- Kwartiningsih, E., Setyawardhani, D.A., Wiyatno, A. dan Triyono, A. 2009. Zat Pewarna Alami Tekstil dari Kulit Buah Manggis. *Ekuilbrium*. 8 (1): 41-47.
- Luliana, S., Purwanti N.U. dan Manihuruk, K.N. 2016. Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Science and Research*. 3 (3): 120-129.
- 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.
- Mamuaja, C.F. 2017. *Lipida*. Manado. Unsrat Press.
- Mangela, O., Ridhay, A. dan Musafira. 2016. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tembelean (*Lantana 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.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 3 (1): 26-31.

- Maryani, Monalisa, S.S. dan Panjaitan, R.S. 2020. Efektifitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* pada Uji *In Vitro*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10 (2): 196-208.
- Muhammad A. dan Mudi, S.Y. 2011. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Terminalia catappa*, Leaf Extracts. *Biokemistri*. 23 (1): 35-39.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2): 361-367.
- Munira, Rasidah, Mellani, E., Zakiah, N., dan 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.
- Naspiah, N., Masruhim, M.A. dan Fitriani, V.Y. 2013. Uji Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap DPPH (*1-1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil*). *Indonesian Journal of Applied Sciences*. 3 (2): 62-65.
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Orwa C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. dan Anthony, S. 2009. *Terminalia catappa*. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide*. Ver. 4.0: 1-5.
- Purnama, H., Eriani, W. dan Hidayati, N. 2019. Natural Dye Extraction from Tropical Almond (*Terminalia*

catappa Linn) Leaves and Its Characterization. *AIP Conference Proceedings*. 2114 (1): 1-7.

- Putra, C.D.P., Fachriyah, E. dan Kusriani, D. 2011. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Toksisitas Senyawa Steroid dalam Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* Linn). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 14 (1): 4-7.
- Raharjo, T.J. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ramadhan, P. 2015. *Mengenal Antioksidan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Renard, C.M.G.C. 2018. *Interactions Between Dietary Antioxidants and Plant Cell Walls. Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Rohman, A. 2012. *Spektroskopi Inframerah dan Kemometrika untuk Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sa'adah, H. dan Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2): 149-153.
- Sahala, A. dan Soegihardjo, C.J. 2012. Uji Antioksidan dan Penetapan Kadar fenolat Total Fraksi Air daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode Folin-Ciocalteu. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 9 (2): 91-97.

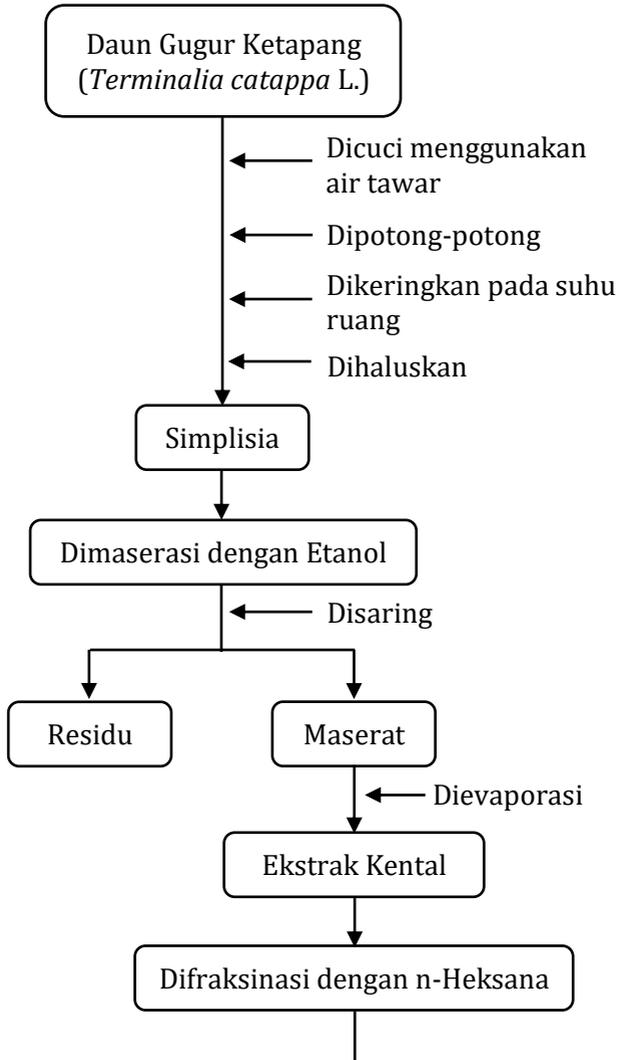
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1 (1): 47-53.
- Santoso, U. 2016. *Antioksidan Pangan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sarker, S.D. dan Nahar, L. 2009. *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi: Bahan Kimia Organik, Alam, dan Umum*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sayuti, K.S. dan Yenrina, R. 2015. *Antioksidan, Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Septiani, R. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksan serta Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L. Skeels) dengan Metode DPPH. *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 1 (2): 361-366.
- Shalaby, E.A. dan Shanab, S.M.M. 2013. Antioxidant Compound, Assays of Determination and Mode of Action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7 (10): 528-539.
- Simaremare, E.S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*. 11 (1): 98-107.
- Sitorus, M. 2009. *Spektroskopi: Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Surfina, J., Nurhamidah, dan Handayani, D. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus*

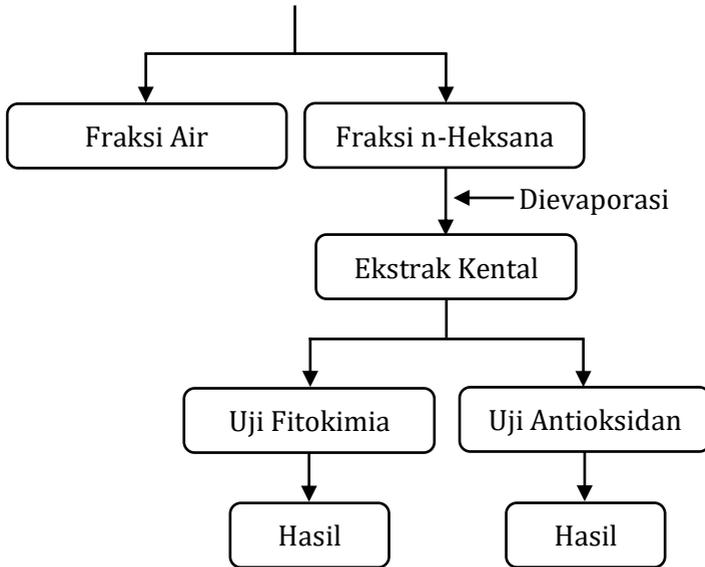
- communis* L (Jarak Kepyar). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 1 (1): 66-70.
- Suryelita, Etika, S.B. dan Kurnia, N.S. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.). *Eksakta*. 18 (1): 86-94.
- Sutrisna, EM. 2013. *Penyakit Degeneratif*. Preventif Penyakit Degeneratif dengan Pola Hidup Ala Rasulullah SAW. Surakarta 31 Maret 2013.
- Tasneem, 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.
- Thomson L.A.J. dan Evans, B. 2006. *Terminalia catappa* (Tropical Almond). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Ver 2.2: 1 – 20.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1 (1). 98-106.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Vadwala, Y. dan Kola N. 2017. Dyeing of Nylon Fabric with Natural Dye Extracted from Waste Leaves of *Terminalia catappa* Locally Known as Tropical Almond Tree. *International Journal of Home Science*. 3 (2): 175-181.
- Vasic, S.M., Stefanovic, O.D. dan Radojevic, I.D. 2012. Biological Activities of Extracts from Cultivated *Granadilla Passiflora alata*. *EXCLI Journal*. 11: 208-218.

- Wahdaningsih, S., Setyowati, E.P. dan Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*. 16 (3): 156-160.
- Williams, D.H. dan Fleming, I. 2013. *Metode Spektroskopi dalam Kimia Organik*. Terj. Lolita, July Manurung, Winny Riviani Syarif. Ed. 6. Jakarta: EGC.
- World Health Organization. 2018. *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2018*. Switzerland.
- Yully, A., Muhdarina, dan Nurhayati. 2015. Bioarang Limbah Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Adsorben Zat Warna Metilen Biru dalam Larutan Berair. *Jurnal Online Mahasiswa FMIPA*. 2 (1): 246-252.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian





Lampiran 2. Perhitungan Kimia

A. Perhitungan % Rendemen Ekstrak

1. Rendemen ekstrak etanol

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{109,32 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,932\%\end{aligned}$$

2. Rendemen fraksi n-heksana

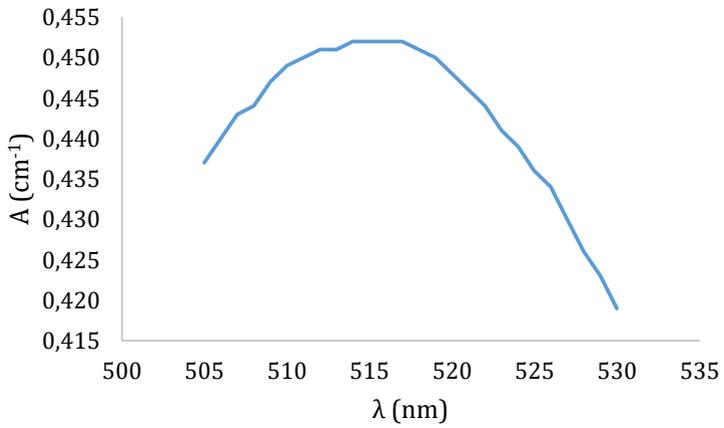
$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,22 \text{ g}}{104,15 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 2,13\%\end{aligned}$$

B. Perhitungan Kadar Steroid

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar Steroid} &= \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa simplisia kering (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{0,03 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,06\%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Hasil Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Panjang Gelombang (nm)	A (cm⁻¹)
505	0,437
506	0,440
507	0,443
508	0,444
509	0,447
510	0,449
511	0,450
512	0,451
513	0,451
514	0,452
515	0,452
516	0,452
517	0,452
518	0,451
519	0,450
520	0,448
521	0,446
522	0,444
523	0,441
524	0,439
525	0,436
526	0,434
527	0,430
528	0,426
529	0,423
530	0,419



Grafik Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Lampiran 4. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana

[FH]	A _{DPPH}	A _{Sampel}	% I
0,5	0,452	0,229	49,336
	0,452	0,227	49,779
	0,452	0,229	49,336
	0,452	0,231	48,894
1	0,452	0,225	50,221
	0,452	0,225	50,221
	0,452	0,224	50,442
	0,452	0,226	50,000
2	0,452	0,219	51,549
	0,452	0,218	51,770
	0,452	0,220	51,327
	0,452	0,216	52,212
4	0,452	0,203	55,088
	0,452	0,207	54,204
	0,452	0,206	54,425
	0,452	0,209	53,761
8	0,452	0,190	57,965
	0,452	0,187	58,628
	0,452	0,191	57,743
	0,452	0,188	58,407
10	0,452	0,182	59,735
	0,452	0,180	60,177
	0,452	0,177	60,841
	0,452	0,182	59,735

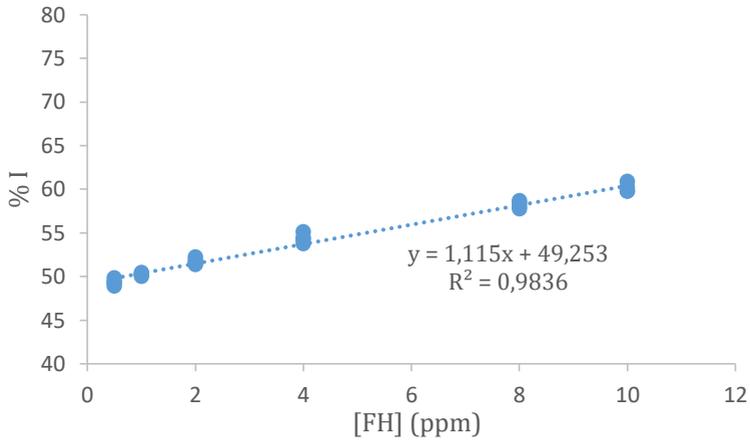
Keterangan:

[FH] : Konsentrasi fraksi n-heksana (ppm)

A_{Blanko} : Nilai absorbansi DPPH (cm⁻¹)

A_{sampel} : Nilai absorbansi sampel uji (cm⁻¹)

% I : Persentase penghambatan (%)



Grafik Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana

A. Contoh perhitungan persentase penghambatan (% I) DPPH

$$A_{\text{Blangko}} = 0,452 \text{ cm}^{-1}$$

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

$$\% I = \frac{A_{\text{Blangko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Blangko}}} \times 100\%$$

$$\% I = \frac{0,452 - 0,229}{0,452} \times 100\%$$

$$\% I = 49,336 \%$$

B. Perhitungan konsentrasi penghambatan 50 % (IC₅₀)

Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = 1,115x + 49,253$$

$$y = ax + b$$

$$50 = 1,115x + 49,253$$

$$x = \frac{50 - 49,253}{1,115}$$

$$x = 0,670$$

Jadi, nilai nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 0,670 ppm

Lampiran 5. Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

[AK]	A_{DPPH}	A_{Sampel}	% I
0,03125	0,500	0,272	45,600
	0,490	0,259	47,143
	0,470	0,248	47,234
	0,450	0,229	49,111
0,0625	0,500	0,252	49,600
	0,490	0,249	49,184
	0,470	0,239	49,149
	0,450	0,227	49,556
0,125	0,500	0,247	50,600
	0,490	0,245	50,000
	0,470	0,235	50,000
	0,450	0,225	50,000
0,25	0,500	0,237	52,600
	0,490	0,228	53,469
	0,470	0,219	53,404
	0,450	0,211	53,111
0,5	0,500	0,199	60,200
	0,490	0,193	60,612
	0,470	0,185	60,638
	0,450	0,148	62,667
1	0,500	0,121	75,800
	0,490	0,116	76,327
	0,470	0,109	76,809
	0,450	0,105	76,667

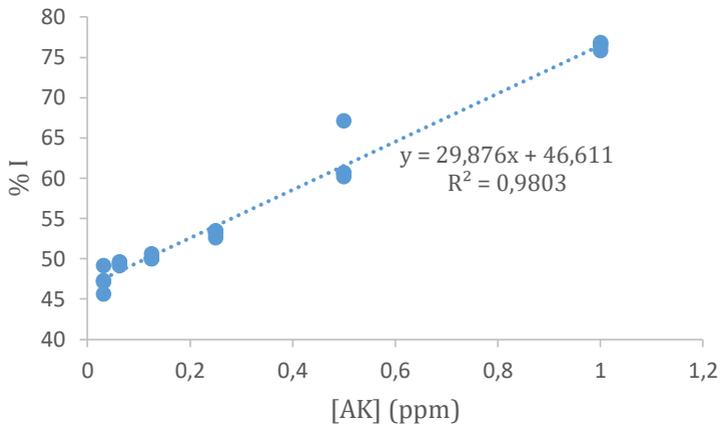
Keterangan:

[AK] : Konsentrasi asam askorbat (ppm)

A_{Blanko} : Nilai absorbansi DPPH (cm^{-1})

A_{sampel} : Nilai absorbansi sampel uji (cm^{-1})

% I : Persentase penghambatan (%)



Grafik Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

A. Contoh perhitungan persentase penghambatan (% I) DPPH

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

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

$$\% I = \frac{A_{\text{Blangko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Blangko}}} \times 100\%$$

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

$$\% I = 45,600 \%$$

B. Perhitungan konsentrasi penghambatan 50 % (IC_{50})

Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = 29,876x + 46,611$$

$$y = ax + b$$

$$50 = 29,876x + 46,611$$

$$x = \frac{50 - 46,611}{29,876}$$

$$x = 0,113$$

Jadi, nilai nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 0,113 ppm

Lampiran 6. Aktivitas Antioksidan Kuersetin

[K]	A _{DPPH}	A _{Sampel}	% I
0,03125	0,730	0,370	49,315
	0,730	0,366	49,863
	0,730	0,367	49,726
	0,730	0,374	48,767
0,0625	0,730	0,365	50,000
	0,730	0,364	50,137
	0,730	0,367	49,726
	0,730	0,364	50,137
0,125	0,730	0,365	50,000
	0,730	0,362	50,411
	0,730	0,360	50,685
	0,730	0,362	50,411
0,25	0,730	0,355	51,370
	0,730	0,356	51,233
	0,730	0,352	51,781
	0,730	0,351	51,918
0,5	0,738	0,346	53,117
	0,738	0,344	53,388
	0,738	0,340	53,930
	0,738	0,345	53,252
1	0,738	0,312	57,724
	0,738	0,315	57,317
	0,738	0,314	57,453
	0,738	0,315	57,317

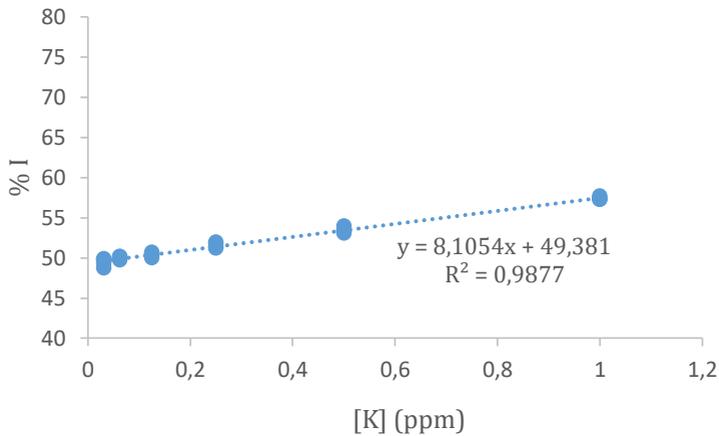
Keterangan:

[K] : Konsentrasi kuersetin (ppm)

A_{Blanko} : Nilai absorbansi DPPH (cm⁻¹)

A_{sampel} : Nilai absorbansi sampel uji (cm⁻¹)

% I : Persentase penghambatan (%)



Grafik Persamaan Regresi Linier Aktivitas Antioksidan
Kuersetin

A. Contoh perhitungan persentase penghambatan (% I) DPPH

$$A_{\text{Blangko}} = 0,730 \text{ cm}^{-1}$$

$$A_{\text{Sampel}} = 0,370 \text{ cm}^{-1}$$

$$\% I = \frac{A_{\text{Blangko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Blangko}}} \times 100\%$$

$$\% I = \frac{0,730 - 0,370}{0,730} \times 100\%$$

$$\% I = 49,315 \%$$

B. Perhitungan konsentrasi penghambatan 50 % (IC₅₀)

Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah

$$y = 8,1054x + 49,381$$

$$y = ax + b$$

$$50 = 8,1054x + 49,381$$

$$x = \frac{50 - 49,381}{8,1054}$$

$$x = 0,076$$

Jadi, nilai nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 0,076 ppm.

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

A. Sampel Penelitian



Pohon Ketapang



Daun Ketapang Kering

B. Ekstraksi



Maserasi Daun Ketapang



Ekstrak Etanol Daun
Ketapang

C. Fraksinasi

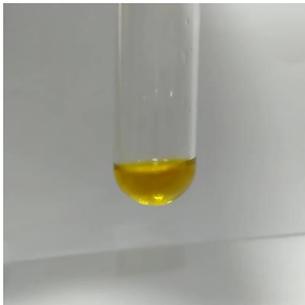


Fraksinasi Ekstrak Etanol
Daun Ketapang dengan
Heksana



Fraksi n-Heksana Daun
Ketapang

D. Uji Fitokimia



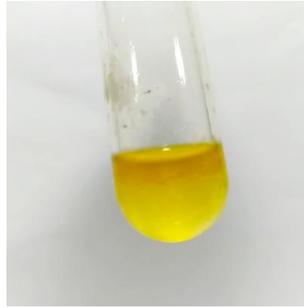
Uji Mayer
(Alkaloid)



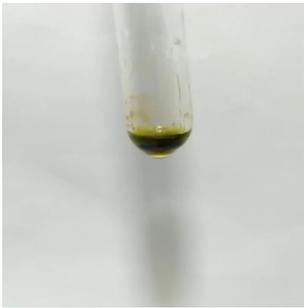
Uji Dragendroff
(Alkaloid)



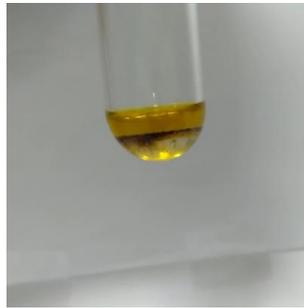
Uji Shinoda
(Flavonoid)



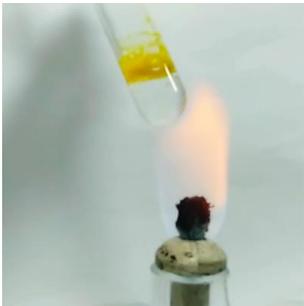
Uji Timbal Asetat
(Flavonoid)



Uji Libermann-Burchard
(Steroid dan Triterpenoid)



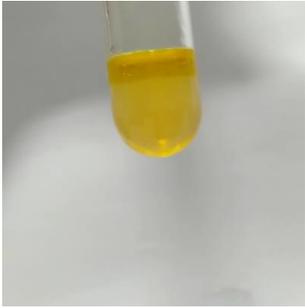
Uji Salkowski
(Steroid dan Triterpenoid)



Uji Saponin



Uji Fenol



Uji Tanin

E. Kadar Steroid



Proses Hidrolisis



Hasil Hidrolisis



Proses Partisi dengan Etil Asetat

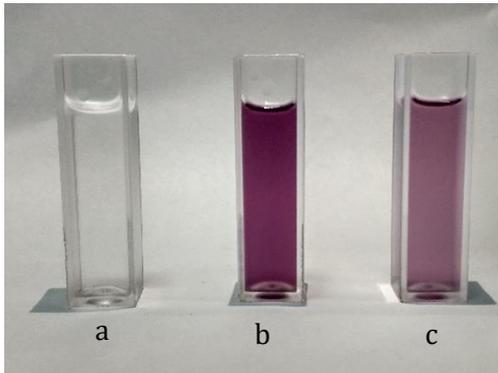


Hasil Partisi



Hasil Pengovenan

F. Pemudaran Warna Larutan DPPH pada Uji Aktivitas Antioksidan



Pemudaran Warna Larutan DPPH
a. Etanol; b. Larutan DPPH 0,06 mM;
c. Larutan DPPH 0,06 mM + Larutan Uji

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Setya Adji Wichaksono
2. TTL : Kudus, 7 Desember 1997
3. Alamat : Dk. Tampingan, RT. 003 RW. 001,
Ds. Hadiwarno, Kec. Mejobo, Kab. Kudus
4. HP : 0823 2777 1897
5. Email : setyaadjiwichaksono07@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. TK Pertiwi Hadiwarno
 - b. MI NU Imaduddin Hadiwarno
 - c. SMP N 1 Jekulo
 - d. MAN 1 Kudus
2. Pendidikan Non-Formal
 - a. TPQ Manahilul Irfan Hadiwarno
 - b. Madin Imaduddin Hadiwarno

Kudus, 11 Juni 2021



Setya Adji Wichaksono

NIM. 1508036006