

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
KORTEKS BATANG SALAM (*Syzygium
polyanthum*)

SKRIPSI

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



Oleh:

SITI NURJANAH

NIM : 133711010

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2017

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
KORTEKS BATANG SALAM (*Syzygium
polyanthum*)

SKRIPSI

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



Oleh:

SITI NURJANAH

NIM : 133711010

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2017

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Siti Nurjanah

NIM : 133711010

Jurusan : Pendidikan Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KORTEKS
BATANG SALAM (*Syzygium polyanthum*)”**

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

Semarang, 8 Juli 2017

Pembuat Pernyataan



Siti Nurjanah

133711010



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Km. 1 Semarang Telp. 024 76433366

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**

Nama : **Siti Nurjanah**

NIM : **133711010**

Jurusan : **Pendidikan Kimia**

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

Semarang, Juli 2017

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Hj. Malikhatal Hidayah, S.T, M.Pd. NIP. 19830415 200912 2 0013
Wirda Udaibah, M.Si NIP. 19850104 200912 2 003

Penguji III

Penguji IV

Hj. Ratih Rizqi Nirwana, S.Si, M.Pd NIP. 19810414 200501 2 003
Molleson, S. Pd., M.Si NIP. 19830504 201101 2 008

Pembimbing I

Pembimbing II

R. Artzal Firmansyah, S.Pd., M.Si NIP.19790819 200912 1 001

Dian Ayuning Tyas, M.Biotech NIP. 19841218 201101 2 004

NOTA DINAS

Semarang, 7 Juli 2017

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 : Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol
Korteks Batang Salam (*Syzygium
polyanthum*)

Nama : **Siti Nurjanah**

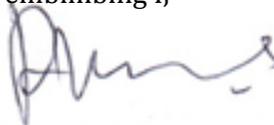
NIM : 133711010

Jurusan : Pendidikan Kimia

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing I,

**R. Arizal Firmansyah, S.Pd, M.Si.****NIP : 19790819 200912 1 001**

NOTA DINAS

Semarang, 7 Juli 2017

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 : Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol
Korteks Batang Salam (*Syzygium
polyanthum*)

Nama : **Siti Nurjanah**

NIM : 133711010

Jurusan : Pendidikan Kimia

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Pembimbing II,

**Dian Ayuning Tyas, M.Biotech****NIP: 19841218 201101 2004**

ABSTRAK

Judul : Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Korteks Batang Pohon Salam (*Syzygium polyanthum*)

Nama : Siti Nurjanah

NIM : 133711010

Reaksi pembentukan senyawa radikal bebas dalam tubuh secara berlebihan menyebabkan stres oksidatif yang dapat memicu berbagai penyakit, sehingga dibutuhkan asupan antioksidan tambahan. Asupan antioksidan tambahan dapat berupa antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Paparan jangka panjang antioksidan sintetik dilaporkan mampu memicu timbulnya kanker, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan alami. Salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, terutama di bagian daun. Adanya kesamaan kandungan senyawa metabolit sekunder di daun dan batang salam (Liliwirianis, 2011), serta tingginya aktivitas antidiabetes korteks batang *Syzygium* sp. yang berhubungan dengan aktivitas antioksidannya memungkinkan korteks batang salam juga berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam diuji dengan metode penangkalan radikal bebas DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol korteks batang salam mengandung senyawa alkaloid, fenolat, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Kekuatan aktioksidannya termasuk dalam kategori kuat, dengan IC_{50} 37,6724 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai AAI 1,045. Kandungan total fenolatnya yaitu 366,9483 mg GAE/g ekstrak dan kandungan total flavonoidnya yaitu 4,21 mg QE/g ekstrak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol korteks batang salam berpotensi sebagai antioksidan alami.

Kata Kunci: *Syzygium polyanthum*, etanol, korteks, antioksidan.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmatNya kepada seluruh alam. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada suri tauladan kita, Nabi Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul “**Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)**” ditulis untuk memenuhi sebagian syarat guna mendapat gelar Sarjana Pendidikan pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Selama proses penelitian dan penyusunan skripsi, penulis mendapatkan banyak ilmu dan pengalaman yang sangat berguna.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan bantuan yang sangat berarti bagi penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ruswan, M.Ag selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang beserta stafnya.

2. Bapak R. Arizal Firmansyah, S. Pd., M.Si selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia sekaligus dosen pembimbing yang telah mengarahkan dan mendukung penelitian ini sejak awal.
3. Ibu Anissa Adiwena Putri selaku dosen wali yang selalu memotivasi dan memantau perkembangan penulis selama masa studi.
4. Ibu Dian Ayuning Tyas, M. Biotech selaku pembimbing yang selalu membimbing dan mengarahkan penulis baik secara langsung maupun melalui surat elektronik.
5. Segenap dosen di lingkungan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang, Pendidikan Kimia yang selalu memberikan dukungan, saran, doa, semangat, dan ilmu pengetahuannya kepada penulis.
6. Dr. K.H. Fadlolan Musyafa' dan keluarga besar Ma'had Al Jami'ah Walisongo, untuk semua wawasan dan pengalaman berharganya yang selalu memotivasi penulis.
7. Orang tua tercinta, Ibu Siti Rohmah dan Bapak Karyoto, yang selalu mencurahkan doa dan kasih sayang sepanjang masa kepada penulis. Serta teruntuk Mas Wahab dan Dek Mila yang selalu menjadi penyemangat bagi penulis.
8. Bu Anita dan Mas Mughis selaku laboran dan teman-teman asisten di Laboratorium Kimia.

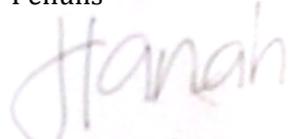
9. Sahabat Salam, M. Najib dan A. Ikhwan Habibi, untuk penelitian ini, semangat, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
10. Sahabat rasa keluarga, yang selalu memberikan semangat dan membantu penulis, Habibi, Mbak Azma, Najib, Mas Dikka, Dek Zum, Dek Fitri, Ummina, Mala, Priska, Mbak Anis, Mbak Riyani, dan Shohibush Shuthuh, Mbak Laila, Fiki, Lisa, Dina, dan Uci.
11. Sahabat-sahabat tersayang Pendidikan Kimia 2013, untuk semua momen bersama kalian.
12. Teman rasa keluarga, Tim KKN Posko 3 Desa Lanjan, Fadil, Fitriya, Mahfudz, Puput, Aldo, Esti, Hana, Ani, Marisa, Nayla, dan Rofi'.
13. Bu Hanik, Mbak Erika, Pak Agung, Fitriya, dan seluruh teman-teman yang turut membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca baik mengenai pelaksanaan riset maupun penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan peradaban manusia. Terima kasih.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Semarang, 8 Juli 2017

Penulis



Siti Nurjanah

133711010

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA PEMBIMBING	iv
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
BAB I : PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	7
BAB II : LANDASAN TEORI	9
A. Deskripsi Teori.....	9

1. Pohon Salam	9
2. Ekstraksi.....	12
3. Radikal Bebas.....	16
4. Antioksidan.....	19
5. Metode Penangkalan Radikal Bebas DPPH.....	22
6. Senyawa Metabolit Sekunder	24
B. Kajian Pustaka	28
BAB III : METODE PENELITIAN	32
A. Alat dan Bahan	32
B. Prosedur Kerja	34
C. Teknik Analisis Data	45
BAB IV : DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA.....	50
A. Deskripsi Data	50
B. Analisis Data.....	61
BAB V : PENUTUP.....	78
A. Kesimpulan.....	78
B. Saran.....	78

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN-LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
Tabel 4.1	Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	51
Tabel 4.2	Persentase penghambatan DPPH oleh ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	52
Tabel 4.3	Persentase penghambatan DPPH oleh asam galat dan kuersetin	54
Tabel 4.4	Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) pada uji kandungan total fenolat	58
Tabel 4.5	Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) pada uji kandungan total flavonoid	60
Tabel L.1	Persentase Penghambatan DPPH oleh ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	93
Tabel L.2	Persentase Penghambatan DPPH oleh asam galat	94
Tabel L.3	Persentase Penghambatan DPPH oleh Kuersetin	95
Tabel L.4	Absorbansi asam galat pada uji kadar fenolat total	97
Tabel L.5	Absorbansi kuersetin pada uji kadar flavonoid total	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Struktur DPPH	23
Gambar 3.1	Diagram alur penelitian	34
Gambar 4.1	Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	53
Gambar 4.2	Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam galat	55
Gambar 4.3	Grafik persamaan regresi linear aktivitas antioksidan kuersetin	56
Gambar 4.4	Kurva kalibrasi asam galat pada uji kandungan total fenolat	57
Gambar 4.5	Kurva persamaan regresi linear kuersetin pada uji kadar flavonoid total	60
Gambar 4.6	Mekanisme reaksi reduksi radikal bebas DPPH	70
Gambar L.1	Kurva optimasi panjang gelombang DPPH	92
Gambar L.2	Kurva optimasi panjang gelombang reagen Folin-Ciocalteu pada uji kadar fenolat total	96
Gambar L.3	Kurva Optimasi Panjang Gelombang Reagen $AlCl_3$	98
Gambar L.4	Pohon salam	105
Gambar L.5	Simplisia	105
Gambar L.6	Uji alkaloid	106

Gambar L.7	Uji fenol	106
Gambar L.8	Uji flavonoid	106
Gambar L.9	Uji tanin	107
Gambar L.10	Uji terpenoid	107
Gambar L.11	Uji steroid	107
Gambar L.12	Uji saponin	108
Gambar L.13	Larutan DPPH	108
Gambar L.14	Pemudaran warna larutan DPPH oleh ekstrak	108
Gambar L.15	Pemudaran warna larutan DPPH oleh asam galat	109
Gambar L.16	Pemudaran warna larutan DPPH oleh kuersetin	109
Gambar L.17	Uji kandungan total fenolat	110
Gambar L.18	Uji kandungan total flavonoid	110

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Reaksi pembentukan senyawa radikal bebas terjadi secara alami di dalam tubuh. Senyawa radikal bebas di antaranya dihasilkan pada proses produksi ATP oleh mitokondria (Kabel, 2014). Senyawa radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Senyawa radikal bebas memiliki reaktivitas yang tinggi sehingga akan terjadi reaksi pembentukan radikal bebas berantai. Manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh (Winarsi, 2007). Pada kadar rendah, senyawa radikal bebas dibutuhkan oleh tubuh, akan tetapi jika produksi senyawa radikal bebas berlebihan, akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi dan penetralisasian senyawa radikal bebas (Kabel, 2014). Stres oksidatif merupakan keadaan ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh (Wahlqvist, dkk, 2013). Stres oksidatif berimplikasi pada berbagai penyakit, seperti diabetes mellitus, alzheimer, neurodegeneratif, dan hipertensi serta memicu

karsinogenesis (Singh dan Singh, 2008). Werdhasari (2014) juga melaporkan bahwa stres oksidatif memicu penyakit jantung dan stroke. Stres oksidatif juga memicu timbulnya penyakit ginjal (Sarma, Mallick, dan Ghosh, 2010).

Senyawa radikal bebas yang melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh akan menyerang komponen lipid, protein, enzim, maupun DNA dalam tubuh (Werdhasari, 2014), sehingga dibutuhkan antioksidan tambahan. Kebutuhan konsumsi antioksidan tambahan bisa didapatkan melalui bahan makanan.

Vitamin C dan vitamin E telah digunakan secara luas sebagai antioksidan. Selain itu, ada pula senyawa antioksidan sintetik, seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksi Toluene) yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dan vitamin E. Akan tetapi, paparan jangka panjang antioksidan sintetik tersebut dapat memicu timbulnya tumor dan kanker (Shalaby dan Shanab, 2013). Oleh karena itu, diperlukan suatu antioksidan alami dengan tingkat keamanan dan aktivitas yang tinggi (Indrayana, 2008).

Tanaman merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Hal ini berkaitan dengan kandungan senyawa

fenolat di dalamnya (Prakash, Rigelhof, dan Miller, 2001; Safriani, dkk, 2011). Tanaman yang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan berasal dari genus *syzygium*.

Iqbal dan Kusumawati (2011) melaporkan bahwa beberapa tanaman genus *syzygium* berpotensi sebagai antioksidan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aroaticum*), daun juwet (*Syzygium cumini*), daun jambu air (*Syzygium aquaeum*), dan daun salam (*Syzygium poyanthum*) mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 12,3160 ppm, 9,6613 ppm, 10,3230 ppm, dan 11,5851 ppm. Darusman, Wahyuni dan Alwi (2013) juga melaporkan bahwa tanaman genus *syzygium* mampu menangkal radikal bebas. Menurut hasil penelitian tersebut, ekstrak metanol dan etil asetat dari daun *Syzygium aromaticum*, ekstrak metanol tunas *Syzygium aromaticum* serta ekstrak metanol dan etil asetat dari daun *Syzygium polyanthum* mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 11,43 ppm; 9,20 ppm; 9,26 ppm; 21,24 pm; dan 13,70 ppm.

Salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman yang telah banyak diteliti aktivitas farmakologinya, salah satunya adalah aktivitas antioksidan (Rizki dan Hariandja,

2015). Har dan Ismail (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 90,85 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan penelitian tersebut, senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolat, terutama asam galat dan kafeat. Peranan senyawa fenolat sebagai antioksidan dalam tanaman *Syzygium polyanthum* juga telah dilaporkan oleh Othman, dkk (2014). Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya korelasi yang berbanding lurus antara kandungan total senyawa fenolat dengan aktivitas antioksidan di dalam ekstrak air dan etanol. Selain senyawa fenolat, senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan dalam daun salam adalah bethakaroten. Hal ini berdasarkan kemampuannya dalam menghambat oksidasi asam linoleat secara efektif (Perumal, dkk, 2012). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lelono (2012) menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang salam berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian tersebut juga melaporkan adanya hubungan antara kandungan total fenolat dengan kapasitas total antioksidan. Menurut Ruchiyat (2013) senyawa yang paling banyak terkandung dalam ekstrak metanol daun salam adalah senyawa flavonoid dan fenolat. Selain itu, ekstrak metanol daun salam juga mengandung saponin, tannin, steroid/triterpenoid, dan kuinon (Kusuma, dkk, 2011).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Safriani, dkk (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki kandungan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air dan n-heksan daun salam. Kandungan polifenol tersebut berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya. Sutrisna, dkk, (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun salam mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan IC_{50} sebesar 27,80 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liliwirianis, dkk (2011), batang dan daun salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang sama. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam batang dan daun salam adalah alkaloid, saponin, steroid, fenolat, dan flavonoid. Penelitian yang dilakukan Sarasvaty (2010) pada 20 tanaman genus *Syzygium* menunjukkan bahwa korteks tanaman *Syzygium* memiliki aktivitas antidiabetes paling tinggi. Menurut Sutrisna, dkk (2016) aktivitas antidiabetes *Syzygium polyanthum* berkaitan dengan kemampuan antioksidannya. Oleh karena itu, korteks tanaman salam juga berpotensi sebagai antioksidan.

Pelarut etanol dipilih karena dalam penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan hasil yang efektif untuk mengekstrak senyawa antioksidan dalam

daun salam (Safriani, dkk, 2011; Kusuma, dkk, 2011; Safriani, Arpi, dan Erfiza, 2015; Sutrisna, dkk, 2016). Metode uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji penangkalan radikal bebas DPPH. Uji tersebut merupakan metode uji aktivitas antioksidan yang relatif cepat, sederhana dan efektif. Uji DPPH juga merupakan uji yang baik untuk pelarut-pelarut organik, terutama alkohol (Apak, dkk, 2007).

Berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang sama pada daun dan batang salam, didukung tingginya aktivitas antidiabetes pada korteks tanaman genus *Syzygium* yang berkaitan dengan aktivitas antioksidannya, serta didukung belum adanya kajian aktivitas antioksidan pada korteks salam, maka penulis melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*), dengan judul "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*).

B. Rumusan Masalah

1. Berapakah nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap radikal bebas DPPH?

2. Berapakah kandungan total fenolat dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)?
3. Berapakah kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)?

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap radikal bebas DPPH.
2. Untuk mengetahui kandungan total fenolat dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*).
3. Untuk mengetahui kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*).

Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai manfaat korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) bagi kesehatan.
2. Mendukung upaya pengembangan antioksidan dari bahan alam dalam bidang pangan maupun obat-obatan.

3. Mendukung penelitian dan pengembangan obat berbasis bahan alam.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Deskripsi Teori

1. Pohon Salam

a. Klasifikasi

Pohon salam memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledoneae

Subclassis : Dialypetalae

Ordo : Myrtales

Familia : Myrtaceae

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium polyanthum*

(Tjitrosoepomo, 2002)

b. Sinonim

Pohon salam (*Syzygium polyanthum*) juga dikenal sebagai *Eugenia polyantha* (Dalimarta, 2000). Pohon salam juga memiliki nama yang berbeda di beberapa daerah. Pohon salam dikenal sebagai *manting* oleh masyarakat Jawa. Masyarakat Melayu menyebut pohon salam sebagai *maselangan* dan *ubar serai*. Pohon salam

juga disebut sebagai *gowok* oleh masyarakat Sunda (Herbie, 2015).

c. Tempat Tumbuh

Pohon salam tumbuh liar di hutan dan pegunungan, atau ditanam di pekarangan dan sekitar rumah. Pohon salam dapat ditemukan pada dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.800 mdl (Herbie, 2015).

d. Morfologi

Pohon salam bertajuk rimbun, tinggi mencapai 25 m. Pohon salam berakar tunggang. Daun salam tunggal, letaknya berhadapan, bertangkai dengan panjang 0,5-1 cm. Helaian daun berbentuk lonjong sampai elips. Ujung daun salam meruncing, pangkalnya runcing dengan tepi rata. Panjang daun salam 5-15 cm dengan lebar 3-8 cm. Pohon salam memiliki bunga majemuk berwarna putih dan baunya harum. Buah pohon salam berbentuk bulat, dengan diameter 8-9 mm, berwarna hijau hingga merah gelap setelah masak. Rasa buah salam sedikit sepat. Biji salam berbentuk bulat dengan penampang sekitar 1 cm dan berwarna coklat (Herbie, 2015). Batang salam merupakan batang

berkayu, berbentuk bulat, dan permukaannya licin. Arah tumbuh batang salam tegak lurus dan arah pertumbuhan cabang batang condong ke atas.

e. Kandungan Kimia

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun dan batang pohon salam yaitu alkaloid, saponin, steroid, fenolat, dan flavonoid (Liliwirianis, 2011). Buah pohon salam yang telah masak mengandung saponin, karbohidrat, tanin, alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid, sedangkan buahnya yang masih mentah tidak mengandung saponin (Kusuma, dkk, 2011). Kulit pohon salam mengandung senyawa fenolat, flavonoid, dan flavonol (Lelono, 2012). Kandungan total fenolat terbanyak terdapat dalam ekstrak etanol daun salam dibandingkan dalam ekstrak air dan n-heksan (Safriani, dkk, 2011; Safriani, dkk, 2015).

f. Kegunaan

Masyarakat biasa menggunakan daun salam sebagai salah satu bumbu dapur. Penggunaan daun salam dalam masakan bertujuan untuk menambah cita rasa. Daun salam juga sering digunakan sebagai salah satu ramuan tradisional

jamu untuk mengobati penyakit diabetes. Masyarakat Medan banyak yang telah menggunakan daun salam sebagai jamu bagi penderita diabetes (Widyawati, dkk, 2015: 1701). Air rebusan daun salam dilaporkan mampu menurunkan kadar gula darah penderita diabetes (Yuliana dan Widarsa, 2014).

Ekstrak metanol daun salam telah dilaporkan sebagai antioksidan (Har dan Ismail, 2012), anti bakteri (Gowri dan Vasantha, 2010) dan antidiabetes (Widyawati, dkk, 2015). Ekstrak etanol daun salam juga dapat berperan sebagai antioksidan (Hasanah, 2015; Safriani, Sapri, dan Erfiza, 2015), mampu menurunkan kadar asam urat (Sinaga, dkk, 2014) dan berpotensi sebagai obat anti diabetes (Sutrisna, dkk, 2016) dengan menurunkan kadar gula dalam darah (Studiawan dan Santosa, 2005). Minyak atsiri kulit batang salam dapat digunakan sebagai antijamur (Lelono, 2012).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pengambilan kandungan kimia yang dapat larut dengan penggunaan suatu

pelarut cair, sehingga memisahkannya dari komponen yang tidak larut. Terdapat dua cara ekstraksi menggunakan pelarut, yaitu cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi.

a. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi dengan merendam serbuk sampel dalam pelarut dalam suatu wadah tertutup pada suhu kamar. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari serbuk sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014). Maserasi dapat pula dilakukan dengan pengadukan secara terus menerus yang disebut dengan maserasi kinetik. Pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama merupakan proses remaserasi (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

Penggunaan metode maserasi membutuhkan waktu yang lama serta pelarut yang relatif lebih banyak. Akan tetapi, metode maserasi bagus untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang termolabil (tidak stabil pada kondisi suhu tinggi) (Mukhriani, 2014).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang selalu menggunakan pelarut baru sampai sempurna. Perkolasi dilakukan pada suhu kamar (Dirjen POM DEPKES RI, 2000). Penggunaan pelarut yang selalu baru akan menyebabkan semakin banyak pelarut yang dibutuhkan, selain itu waktu yang dibutuhkan juga lebih lama. Jika ukuran serbuk sampel dalam perkolator tidak homogen maka akan mempersulit pelarut menjangkau seluruh area (Mukhriani, 2014).

Ekstraksi cara panas merupakan ekstraksi yang menggunakan suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar. Ekstraksi cara panas terdiri dari soxhlet, digesti, refluks, infus, dan dekok.

a. Soxhlet

Ekstraksi dengan metode soxhlet dilakukan dengan pelarut yang selalu baru, akan tetapi dalam rangkaian alatnya terdapat pendingin balik sehingga jumlah pelarut yang dibutuhkan selama proses ekstraksi konstan dan terjadi ekstraksi terjadi secara terus menerus (kontinu) (Dirjen POM DEPKES RI, 2000). Kelemahan metode ini adalah kemungkinan senyawa-senyawa yang termolabil untuk terdegradasi, karena ekstrak

yang diperoleh terus menerus berada pada suhu tinggi (Mukhriani, 2014).

b. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi maserasi kinetik dengan suhu di atas suhu kamar, biasanya berkisar pada suhu 40 - 50°C (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

c. Refluks

Ekstraksi dengan metode refluks dilakukan pada titik didih pelarut selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Proses ekstraksi biasanya dilakukan 3-5 kali pada residu pertama (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

d. Infus

Ekstraksi metode infus adalah ekstraksi yang menggunakan pelarut air pada suhu penangas air dengan bejana infus yang tercelup dalam penangas air mendidih (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

e. Dekok

Metode dekok merupakan metode ekstraksi yang mirip dengan metode infus, akan tetapi

dalam waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan suhunya sampai titik didih air (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

Prinsip penggunaan pelarut dalam ekstraksi adalah pelarut yang mampu mengekstrak senyawa aktif yang diinginkan secara optimal, dengan demikian senyawa aktif tersebut dapat terpisahkan dari kandungan lainnya dan ekstrak yang diperoleh sebagian besar mengandung senyawa aktif yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka pelarut yang dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan pelarut tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (Dirjen POM DEPKES RI, 2000).

3. Radikal Bebas

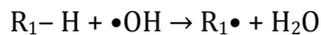
Radikal bebas merupakan molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan di kulit terluarnya (Kabel, 2014). Senyawa radikal bebas cepat bereaksi dengan senyawa lain untuk menangkap elektron yang dibutuhkan agar stabil (Sarma, 2010). Adanya elektron tidak berpasangan

menyebabkan senyawa radikal bebas sangat reaktif (Winarsi, 2007). Jika senyawa radikal bebas bereaksi dengan molekul lain maka terbentuk senyawa radikal bebas baru yang juga akan menyerang molekul lain. Proses tersebut berlangsung terus menerus, sehingga akan terjadi reaksi berantai (Sarma, 2010).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi berikut (Winarsi, 2007):

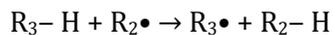
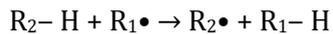
a. Tahap inisiasi

Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas. Misalnya:



b. Tahap propagasi

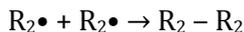
Tahap propagasi adalah pemanjangan rantai radikal.



c. Tahap terminasi

Tahap terminasi yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkapan radikal.





Senyawa radikal bebas dihasilkan dari sumber endogen maupun eksogen. Radikal bebas endogen dihasilkan dalam proses metabolisme tubuh, di antaranya dari aktivitas sel imun, peradangan, stres mental, olah raga berlebihan, infeksi, kanker, dan penuaan. Radikal bebas eksogen di antaranya dihasilkan dari polusi udara, polusi air, asap rokok, alkohol, logam berat, dan radiasi (Kabel, 2014).

Secara alami, tubuh menghasilkan radikal bebas serta antioksidan (Wahlqvist, dkk, 2013). Radikal bebas tidak selalu berdampak buruk, begitu pula dengan antioksidan yang tidak selalu baik bagi tubuh. Keseimbangan di antara keduanya diperlukan tubuh (Lone, dkk, 2013). Jumlah radikal bebas yang melebihi jumlah antioksidan berpotensi menimbulkan berbagai kerusakan. Keadaan tersebut dinamakan stres oksidatif (Wahlqvist, dkk, 2013).

Stres oksidatif memicu berbagai kerusakan dalam tubuh. Stres oksidatif telah banyak dilaporkan berperan dalam terjadinya berbagai penyakit, di antaranya adalah penyakit diabetes, alzheimer,

peradangan, neurodegeneratif serta memicu proses karsinogenesis (Singh dan Singh, 2008).

4. Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang dapat memperlambat reaksi oksidasi suatu molekul (Kabel, 2014). Antioksidan akan memutus reaksi berantai senyawa radikal bebas dengan menghambat reaksi-reaksi oksidasi tersebut dengan mengoksidasi dirinya sendiri (mendonorkan elektron). Jadi, antioksidan merupakan agen pereduksi (Kabel, 2014).

Sistem pertahanan antioksidan yaitu dengan menghalangi proses awal pembentukan radikal bebas, menangkal radikal bebas, mengubah radikal bebas menjadi senyawa dengan toksisitas yang lebih rendah, menghalangi reaksi berantai, memperbaiki kerusakan molekuler yang disebabkan radikal bebas, atau melalui peningkatan sistem pertahanan antioksidan molekul yang akan diserang radikal bebas. Seluruh mekanisme pertahanan ini bertindak kooperatif untuk melindungi tubuh (Kabel, 2014).

Secara umum antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim

superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan non-enzimatis misalnya flavonoid, quinon, bilirubin, dan asam askorbat. Antioksidan enzimatis dan non-enzimatis bekerja sama menghambat reaksi oksidasi senyawa radikal bebas dalam tubuh (Winarsi, 2007).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok, yaitu:

a. Antioksidan primer (antioksidan endogenus)

Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer juga disebut sebagai antioksidan enzimatis. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai, kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

b. Antioksidan sekunder (antioksidan eksogenus)

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis.

Antioksidan sekunder meliputi vitamin C, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin. Antioksidan sekunder banyak ditemukan di sayur mayur dan buah-buahan. Antioksidan sekunder berperan sebagai sistem pertahanan preventif dalam tubuh. Proses pembentukan senyawa oksigen reaktif akan dihambat dengan cara pengkelatan metal, dan jika sudah terbentuk, senyawa tersebut dirusak. Kerja sistem antioksidan sekunder yaitu melalui pemotongan reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan menangkapnya. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler (Winarsi, 2007).

c. Antioksidan tersier

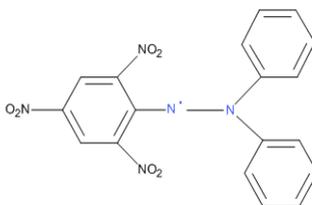
Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007).

Selain antioksidan yang diproduksi oleh makhluk hidup, juga terdapat antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis yang telah banyak diproduksi di laboratorium di antaranya adalah Butil Hidroksi

Anisol (BHA) dan Butil Hidroksi Toluena (BHT). Akan tetapi, penggunaan antioksidan sintetis dalam dosis yang tinggi telah dilaporkan berimplikasi pada kesehatan. Antioksidan sintetis dapat memicu karsinogenesis. Penggunaan antioksidan sintetis dalam dosis yang tinggi menimbulkan dampak yang serius bagi paru-paru, hati, dan ginjal. Konsumsi antioksidan sintetis secara oral juga memiliki efek toksik bagi sistem koagulasi darah dalam tubuh (Shalaby dan Shanab, 2013).

5. Metode Penangkalan Radikal Bebas DPPH

Penggunaan radikal bebas DPPH untuk mengukur aktivitas antioksidan pertama kali dikenalkan oleh Blois (1958). DPPH (α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) merupakan senyawa radikal bebas yang stabil oleh adanya delokalisasi elektron. Adanya delokalisasi elektron tersebut memberikan warna ungu yang sangat kuat (Molyneux, 2003). DPPH memiliki absorbansi maksimal pada panjang gelombang sekitar 515-517 nm (Tirzitis dan Bartosz, 2010).



Gambar 2.1 Struktur DPPH (Molyneux, 2003)

Penggunaan radikal bebas DPPH untuk mengukur kekuatan antioksidan merupakan metode yang relatif efektif, cepat, dan sederhana (Shalaby dan Shanab, 2013). DPPH secara luas digunakan untuk menguji kekuatan suatu senyawa sebagai penangkal radikal bebas. Metode ini dapat digunakan pada sampel yang padat maupun cair. Metode DPPH tidak hanya spesifik pada komponen antioksidan tertentu saja, akan tetapi juga dapat mengukur kemampuan antioksidan sampel secara keseluruhan (Prakash, Rigelhof, dan Miller, 2001). Metode DPPH merupakan metode yang baik untuk pelarut-pelarut organik, terutama alkohol (Apak, dkk, 2007).

Kekuatan antioksidan diukur berdasarkan penurunan absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum. (Antolovich, dkk, 2002). Hasil uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dinyatakan

dalam IC_{50} (*Inhibitor Concentration*), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50% konsentrasi awal (Molyneux, 2003).

Kekuatan aktivitas antioksidan suatu sampel dapat dikelompokkan berdasarkan nilai index aktivitas antioksidan yang dikenal dengan istilah AAI (*Antioxidant Activity Index*). Nilai AAI diperoleh berdasarkan hasil pembagian konsentrasi DPPH terhadap nilai IC_{50} sampel. Aktivitas antioksidan suatu sampel dikategorikan lemah jika nilai AAI kurang dari 0,5, aktivitas antioksidan sedang jika nilai AAI antara 0,5 – 1, aktivitas antioksidan kuat jika nilai AAI 1-2, dan aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai AAI lebih dari 2 (Scherer dan Godoy, 2008).

6. Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan turunan dari metabolit primer dengan berbagai macam aktivitas fisiologis. Metabolit sekunder juga sering disebut sebagai bahan alam. Metabolit sekunder memiliki peranan yang penting dalam sistem pertahanan hidup tanaman (Verma dan Shukla, 2015). Kabera, dkk (2014) mengelompokkan

metabolit sekunder dalam 3 golongan, yaitu sebagai berikut:

a. Terpenoid

Senyawa terpenoid dalam tanaman disintesis di dalam sitoplasma dan plastida. Pada umumnya terpenoid tidak larut dalam air. Terpenoid diklasifikasikan berdasarkan unit isopren, yaitu monoterpen, diterpen, triterpen, tetraterpen, dan politerpenoid. Peranan senyawa terpenoid bagi tanaman adalah sebagai insektisida (Verma dan Shukla, 2015). Beberapa contoh senyawa terpenoid yaitu triterpenoid, steroid, dan saponin.

Triterpenoid merupakan senyawa yang tersusun atas 6 unit isoprena (Verma dan Shukla, 2015). Triterpenoid diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Kebanyakan triterpenoid berupa alkohol, aldehid, dan asam karboksilat. Senyawa triterpenoid berfungsi sebagai anti mikroba (Harborne, 2006).

Steroid adalah triterpena yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentana perhidrofenantrena (Harborne, 2006). Steroid juga dikenal sebagai senyawa hormon. Salah satu

hormon steroid adalah progesteron. Mirip dengan triterpenoid, steroid juga banyak ditemukan dalam bentuk saponin (Raharjo, 2013)

Saponin termasuk golongan glikosida triterpenoid atau steroid. Saponin merupakan senyawa yang mampu membentuk koloid dalam air. Saponin terbentuk melalui komponen lipid (triterpenoid atau steroid) dan komponen yang larut air (gula), sehingga bersifat seperti sabun (Verma, 2015). Saponin berperan sebagai anti mikroba, antioksidan, dan insektisida (Kabera, dkk, 2014).

b. Fenolat

Fenolat merupakan kelompok senyawa yang memiliki gugus fenol (Verma dan Shukla, 2015). Senyawa fenolat dengan lebih dari satu gugus fenol disebut dengan senyawa polifenol. Senyawa polifenol dibagi menjadi dua kelompok, yaitu flavonoid dan tanin (Kabera, dkk, 2014).

Flavonoid mempunyai struktur dasar dengan dua cincin aromatis dengan tiga atom karbon di antara cincin. Tiga atom karbon antar cincin membentuk cincin ketiga yang berupa

heterosiklik O (Raharjo, 2013). Flavonoid merupakan pigmen tanaman yang larut dalam air. Aktivitas farmakologis yang berkaitan dengan flavonoid yaitu anti kanker, anti alergi, anti inflamasi, dan antioksidan (Kabera, dkk, 2014).

Tanin adalah senyawa yang larut dalam air dengan berat molekul yang besar. Tanin merupakan senyawa yang dapat membentuk kompleks dengan protein, pati, selulosa, dan mineral. Tanin digolongkan menjadi tanin yang terhidrolisis dan tanin yang terkondensasi. Tanin dapat berperan sebagai anti inflamasi dan anti diare (Kabera, dkk, 2014).

c. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen dan umumnya bersifat basa (Tukiran, 2016). Beberapa alkaloid bersifat netral dan asam lemah. Alkaloid adalah senyawa dengan berat molekul rendah. Mayoritas alkaloid bersifat racun bagi organisme lain. Alkaloid telah lama dikenal memiliki aktivitas farmakologis, di antaranya sebagai anti bakteri, analgesik, anti inflamasi, antifungi, anti diabetes, dan anti kanker. Beberapa senyawa yang terdapat

dalam tanaman yaitu nikotin dan kafein (Kabera, dkk, 2014).

B. Kajian Pustaka

Salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman yang telah banyak diteliti aktivitas farmakologinya, salah satunya adalah aktivitas antioksidan (Rizki dan Hariandja, 2015). Menurut Har dan Ismail (2012) ekstrak metanol daun salam memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 90,85 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan penelitian tersebut, senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolat, terutama asam galat dan kafeat. Peranan senyawa fenolat sebagai antioksidan dalam tanaman *Syzygium polyanthum* juga telah dilaporkan oleh Othman, dkk (2014). Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya korelasi yang berbanding lurus antara kandungan total senyawa fenolat dengan aktivitas antioksidan di dalam ekstrak air dan etanol daun salam. Menurut Ruchiyat (2013), senyawa yang paling banyak terkandung dalam ekstrak metanol daun salam adalah senyawa flavonoid dan fenolat.

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam batang dan daun salam adalah alkaloid, saponin, steroid, fenolat, dan flavonoid (Liliwirianis, dkk,

2011). Hasanah (2015) melaporkan bahwa dalam ekstrak etanol daun salam terdapat alkaloid, kuinon, saponin, fenolat, triterpenoid, steroid, dan flavonoid. Kulit batang salam mengandung senyawa alkaloid, fenolat, tanin, dan flavonoid (Tukiran, dkk, 2016). Hasil penelitian Har dan Ismail (2012) menunjukkan bahwa asam fenolat yang terdapat dalam daun salam berupa asam galat dan asam kafeat. Lelono (2012) juga melaporkan adanya minyak atsiri dalam tanaman salam yang mampu menghambat pertumbuhan jamur.

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun salam juga dilaporkan oleh Darusman, Wahyuni, dan Alwi (2013). Berdasarkan penelitian tersebut, IC_{50} ekstrak metanol daun salam sebesar 21,24 $\mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian Perumal, dkk (2012) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun salam mampu meredam radikal bebas DPPH dengan IC_{50} sebesar 20,90 $\mu\text{g/ml}$. Kandungan total fenolat dan flavonoid dalam 1 g ekstrak metanol daun salam berturut-turut 333,75 mg GAE dan 65,2 mg CE. Menurut Har dan Ismail (2012) dalam 1 g daun salam kering terdapat fenolat total 111,25 mg GAE, asam kafeat 3,1252 mg CE, dan flavonoid total 0,1487 mg QE. Selain di daun, aktivitas antioksidan juga terdapat di kulit batang salam (Lelono, 2012). Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya

hubungan antara kandungan total fenolat dengan kapasitas total antioksidan.

Ekstrak etanol daun salam dilaporkan memiliki kandungan fenolat yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air dan n-heksan daun salam (Safriani, dkk, 2011). Kandungan fenolat dalam ekstrak etanol daun salam sebesar 55,31 mg GAE/g tanaman. Ekstrak air dan n-heksan berturut-turut adalah 41,1 mg GAE/g dan 4,89 /g (Safriani, Arpi, dan Erfiza, 2015). Kandungan fenolat tersebut berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya. Menurut Sutrisna, dkk, (2016), ekstrak etanol 70% daun salam mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan IC_{50} sebesar 27,80 μ g/ml. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa antioksidan dalam ekstrak etanol daun salam mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liliwirianis, dkk (2011), batang dan daun salam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang sama. Penelitian yang dilakukan Sarasvaty (2010) pada 20 tanaman genus *Syzygium* menunjukkan bahwa korteks tanaman *Syzygium* memiliki aktivitas antidiabetes paling tinggi. Menurut Sutrisna, dkk (2016) aktivitas antidiabetes *Syzygium polyanthum* berkaitan dengan aktivitas

antioksidannya. Korelasi antara aktivitas antioksidan dengan aktivitas antidiabetes juga telah dilaporkan oleh Devasagayam, dkk (2004) dan Widowati (2008). Aktivitas antioksidan salam mampu menghambat asupan glukosa, sehingga laju peningkatan glukosa dalam darah tidak terlalu tinggi (Widowati, 2008). Oleh karena itu, ekstrak etanol korteks tanaman salam juga berpotensi sebagai antioksidan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, blender, alat-alat gelas, toples kaca, peralatan distilasi, *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), *freeze-dryer* (PowerDry LL 1500), dan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Spectronic genesys-20).

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Simplisia

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah korteks batang pohon salam (*Syzygium polyanthum*) dari Mangkang, Kota Semarang, Provinsi Jawa Tengah.

b. Maserasi

Bahan yang digunakan dalam maserasi adalah n-heksan, etil asetat, etanol 70%, dan serbuk korteks batang salam.

c. Penapisan Fitokimia

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji fitokimia adalah pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pita magnesium, serbuk seng (Merck), asam oksalat (Merck), akuades, natrium karbonat (Merck), asam sulfat (Merck), asetat anhidrat (Merck), serbuk magnesium, asam klorida (Merck), etanol (Merck), besi(III) klorida (Merck), natrium hidoksida (Merck), bismuth nitrat (Merck), natrium bikarbonat (Merck), dan merkuri(II) klorida (Merck).

d. Uji Antioksidan

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji antioksidan adalah DPPH (Sigma), ekstrak kering korteks batang salam, metanol (Merck), asam galat (Sigma), dan kuersetin (Sigma).

e. Kandungan Total Fenolat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penentuan kandungan total fenolat adalah asam galat (Sigma), ekstrak kering korteks batang salam, etanol (Merck), akuades, reagen folin-ciocalteu (Merck), dan natrium karbonat (Merck).

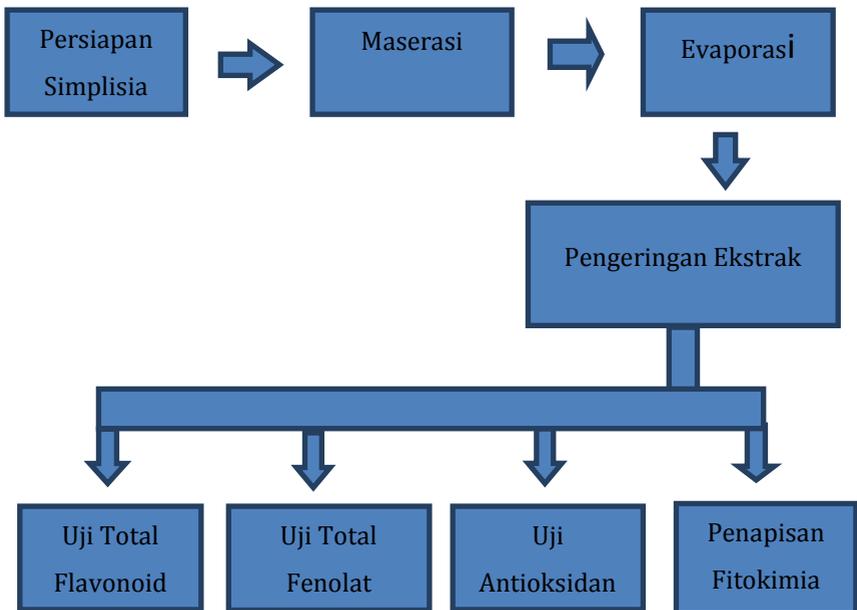
f. Kandungan Total Flavonoid

Bahan-bahan yang digunakan dalam penentuan kandungan total flavonoid adalah kuersetin

(Sigma), ekstrak kering korteks batang salam, aluminium klorida (Univar), dan metanol (Merck).

B. Prosedur Kerja

Alur kerja dalam penelitian ini diawali dengan proses persiapan simplisia untuk maserasi. Hasil maserasi kemudian dievaporasi dan dikeringkan pada kondisi beku. Penapisan fitokimia, uji aktivitas antioksidan, kandungan total fenolat dan total flavonoid dilakukan terhadap ekstrak kering yang telah diperoleh.



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

Prosedur kerja dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Persiapan Simplisia

Batang pohon salam dengan diameter 5 cm dipotong-potong. Korteks batang salam diserut dengan pisau dan dikeringkan dengan diangin-anginkan dalam ruangan. Korteks batang yang kering dipotong-potong kembali untuk memperkecil ukurannya lalu dikeringkan kembali dengan diangin-anginkan dalam ruangan. Ukuran korteks batang diperkecil lagi untuk memudahkan pembuatan serbuk dengan blender. Serbuk korteks batang salam diangin-anginkan dalam ruangan hingga kering.

2. Maserasi

Simplisia dimaserasi secara bertingkat dengan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. 500 gram serbuk korteks batang salam dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu ditambahkan pelarut hingga merendam semua simplisia (2,5 L). Maserasi dimulai dengan pelarut n-heksan. Remaserasi dilakukan hingga maserat yang dihasilkan bening. Kemudian,

simplicia dimaserasi dengan pelarut etil asetat, lalu dengan pelarut etanol. Maserat yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring hingga semua pelarut terambil. Semua maserat ditampung dalam wadah (Saraswaty, 2010).

3. Evaporasi

Maserat yang telah didapatkan dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* (Heidolph) pada suhu 45-50°C dengan kecepatan putaran 50 rpm.

4. Pengeringan Ekstrak

Ekstrak kental etanol yang telah didapatkan dikeringkan dengan menggunakan *freeze-dryer* PowerDry LL 1500.

5. Penapisan Fitokimia

a. Alkaloid

Tiga puluh miligram ekstrak ditambahkan 6,75 ml akuades dan 0,75 HCl 2N kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 2 menit. Larutan didinginkan dan disaring sehingga diperoleh filtrat. Uji alkaloid dilakukan dengan

tiga pereaksi, yaitu pereaksi Bouchardat, Mayer, dan Dragendorf.

Satu mililiter filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan coklat hitam. 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes peraksi Mayer. Jika terbentuk endapan putih atau pucat yang larut dalam metanol maka positif mengandung alkaloid. 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes peraksi Dragendorf. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan jingga coklat (Departemen Kesehatan RI, 1995 dalam Murni, 2012).

b. Fenol

Satu mililiter ekstrak dalam etanol ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif ditandai dengan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam (Tukiran, dkk, 2016).

c. Flavonoid

Dua mililiter larutan ekstrak dalam etanol ditambahkan 0,3 g pita Mg, lalu ditambahkan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga (Tukiran, dkk, 2016).

Dua puluh miligram ekstrak dilarutkan 5 ml dalam etanol. Dua mililiter larutan ekstrak dalam etanol ditambahkan 0,5 g serbuk seng dan 2 ml HCl 2N, lalu didiamkan selama 1 menit. Larutan ditambahkan HCl pekat 10 tetes. Adanya flavonoid ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah intensif dalam waktu 2-5 menit.

d. Saponin

Satu tetes NaHCO_3 ditambahkan ke dalam larutan ekstrak dalam air. Campuran dikocok secara menyeluruh selama 3 menit. Jika terbentuk buih seperti sarang lebah maka menunjukkan adanya saponin dalam sampel (Gowri dan Vasantha, 2010).

e. Tanin

Dua puluh miligram ekstrak ditambahkan 3 ml air panas. Lalu dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit kemudian disaring. Untuk mengetahui adanya tanin dilakukan dengan dua pereaksi, yaitu pereaksi FeCl_3 dan gelatin. Kemudian larutan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1 % beberapa tetes dalam filtrat. Adanya tanin ditunjukkan dengan adanya warna biru tua (Rasyidi, dkk, 2015).

f. Triterpenoid

Dua mililiter ekstrak dalam etanol ditambahkan 1 ml asetat anhidrat dan 1 ml asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan warna ungu, jingga, atau kuning (Tukiran, dkk, 2016).

g. Steroid

Dua puluh miligram ekstrak dilarutkan dalam 1 ml kloroform lalu disaring. Kemudian, asam sulfat ditambahkan ke dalam larutan. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna coklat (Samudra, 2014).

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan radikal bebas DPPH (α, α -diphenylp- β -picrylhydrazyl) (Blois, 1958). Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel mengacu pada metode telah dilaporkan (Safriani, Arpi, dan Erfiza, 2015).

a. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH sebanyak 3,94 mg dilarutkan dalam 100 ml etanol, sehingga didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM.

b. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Dua mililiter larutan DPPH 0,1 mM ditambahkan 1 ml etanol. Larutan dikocok hingga homogen. Lalu, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 505 – 530 nm.

c. Pembuatan Larutan Ekstrak

Lima miligram ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol, sehingga didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Larutan ekstrak tersebut diencerkan untuk membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$, 40 $\mu\text{g/ml}$, dan 50 $\mu\text{g/ml}$.

d. Pengujian Ekstrak

Satu mililiter larutan ekstrak ditambahkan ke dalam 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Lalu, dikocok hingga homogen. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam ruang gelap. Kemudian, larutan dikocok kembali. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Percobaan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi ekstrak.

e. Pengujian Pembanding

1) Asam Galat

Satu miligram asam galat dilarutkan dalam 10 ml etanol, sehingga didapatkan larutan asam galat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$. Larutan asam galat diencerkan untuk membuat larutan asam galat dengan konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 3 $\mu\text{g/ml}$, 4 $\mu\text{g/ml}$, dan 5 $\mu\text{g/ml}$.

Satu mililiter larutan asam galat ditambahkan ke dalam 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Lalu, dikocok hingga homogen. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam ruang gelap. Lalu, larutan dikocok kembali. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi pembandingan.

2) Kuersetin

Satu miligram kuersetin dilarutkan dalam 10 ml etanol, sehingga didapatkan larutan kuersetin dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$. Larutan asam galat diencerkan untuk membuat larutan asam galat dengan

konsentrasi 0,5 µg/ml, 0,75 µg/ml, 1 µg/ml, 1,25 µg/ml, dan 1,5 µg/ml.

Satu mililiter larutan kuersetin ditambahkan ke dalam 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Lalu, dikocok hingga homogen. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam ruang gelap. Larutan dikocok kembali. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi perbandingan.

7. Kandungan Total Fenolat (Safriani, Arpi, dan Erfiza, 2015)

a. Pembuatan Larutan Asam Galat

Dua miligram asam galat dilarutkan dalam 4 ml etanol, sehingga didapatkan larutan asam galat dengan konsentrasi 500 µg/ml. Lalu diencerkan untuk membuat larutan asam galat dengan konsentrasi 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, dan 250 µg/ml.

b. Optimasi Panjang Gelombang

Dua ratus mikroliter larutan asam galat dicampur dengan 0,2 ml akuades dan 0,2 ml

reagen folin-ciocalteu 50%. Campuran diaduk selama 3 menit dan dikocok hingga homogen. Kemudian, ditambahkan 4 ml Na_2CO_3 2% lalu dikocok hingga homogen. Larutan dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 740 – 780 nm.

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Dua ratus mikroliter larutan asam galat dicampur dengan 0,2 ml akuades dan 0,2 ml reagen folin-ciocalteu 50%. Campuran diaduk selama 3 menit dan dikocok hingga homogen. Ditambahkan 4 ml Na_2CO_3 2% lalu dikocok hingga homogen. Larutan dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal.

d. Pengukuran Kandungan Total fenolat dalam Ekstrak

Sepuluh miligram ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol sehingga konsentrasi larutan ekstrak 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. 200 μl larutan ekstrak 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dicampur dengan 200 μl akuades dan 200 μl reagen folin-ciocalteu 50%. Campuran diaduk selama 3 menit lalu dikocok hingga homogen. Kemudian, ditambahkan 4 ml Na_2CO_3 2% lalu

dikocok hingga homogen. Larutan dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal.

8. Kandungan Total Flavonoid (Har dan Ismail, 2012)

a. Pembuatan Larutan Kuersetin

Dua miligram kuersetin dilarutkan dalam 4 ml metanol, sehingga didapatkan larutan kuersetin dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$. Lalu, diencerkan untuk membuat larutan kuersetin dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$, 40 $\mu\text{g/ml}$, 60 $\mu\text{g/ml}$, 80 $\mu\text{g/ml}$, dan 100 $\mu\text{g/ml}$.

b. Optimasi Panjang Gelombang

Dua mililiter larutan kuersetin ditambah 2 ml larutan AlCl_3 2 %. Larutan dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 405 - 440 nm.

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Dua mililiter larutan kuersetin dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 2 ml larutan AlCl_3 2 %. Larutan dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal.

d. Pengukuran Kandungan Total Flavonoid dalam Ekstrak

Sepuluh miligram ekstrak dilarutkan dalam 5 ml metanol sehingga konsentrasi larutan ekstrak 2000 µg/ml. Dua mililiter larutan ekstrak ditambahkan 2 ml larutan AlCl₃ 2%. Larutan dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal.

C. Teknik Analisis Data

1. Pengukuran Aktivitas Antioksidan (Shimamura, dkk, 2014)

a. Persentase penghambatan senyawa radikal bebas DPPH

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

Keterangan:

% I = Persentase penghambatan senyawa radikal bebas DPPH (%)

A_{blanko} = Nilai absorbansi larutan Blanko (cm⁻¹)

A_{sampel} = Nilai absorbansi larutan sampel (cm⁻¹)

- b. Penentuan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC_{50})
- Konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) ditentukan melalui persamaan regresi linear yang diperoleh dari nilai konsentrasi sampel yang diplotkan terhadap nilai persentase penghambatan. Persamaan regresi linear yang nantinya didapatkan adalah:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Presentase inhibisi

a = Gradien

x = Konsentrasi

b = Konstanta

Nilai IC_{50} diwakili oleh nilai x dalam persamaan tersebut. Nilai y sebesar 50, karena penghambatan yang dicari sebesar 50%, sedangkan nilai a dan b didapatkan dari hasil penggambaran kurva x terhadap y.

- c. Penentuan Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) (Scherer dan Godoy, 2008)

$$AAI = \frac{[DPPH]}{IC_{50}}$$

Keterangan:

AAI : *Antioxidant Activity Index*

[DPPH] : Konsentrasi larutan DPPH ($\mu\text{g/ml}$)

IC₅₀ : Konsentrasi penghambatan 50% ($\mu\text{g/ml}$)

2. Penentuan Kandungan Total Fenolat (Eleanore, 2013)

Kandungan total fenolat dihitung berdasarkan persamaan regresi linear senyawa standar fenolat, yaitu asam galat. Persamaan tersebut diperoleh dari penggambaran kurva konsentrasi senyawa terhadap absorbansi pada panjang gelombang maksimal. Bentuk persamaannya adalah:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Absorbansi

a = Gradien

x = Konsentrasi

b = Konstanta

Kandungan total fenolat dinyatakan sebagai miligram (mg) ekuivalen asam galat per gram massa ekstrak kering korteks batang salam (mg GAE/g ekstrak kering korteks batang salam) dengan persamaan berikut:

$$C = c (V/m)$$

Keterangan:

C = Kandungan total fenolat (mg GAE/g ekstrak)

c = Konsentrasi total fenolat dari kurva standar
(mg/ml)

V = Volume ekstrak (ml)

m = Massa ekstrak (mg)

3. Penentuan Kandungan Total Flavonoid (Eleanore, 2013)

Kandungan total flavonoid dihitung berdasarkan persamaan regresi linear kuersetin. Persamaan tersebut diperoleh dari penggambaran kurva konsentrasi senyawa kuersetin terhadap absorbansi pada panjang gelombang maksimal. Bentuk persamaannya adalah:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Absorbansi

a = Gradien

x = Konsentrasi

b = Konstanta

Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai miligram (mg) ekuivalen kuersetin per gram massa

ekstrak kering korteks batang salam (mg QE/g ekstrak kering korteks batang salam) dengan persamaan berikut:

$$C = c (V/m)$$

Keterangan:

C = Kandungan total flavonoid (mg QE/g ekstrak)

c = Konsentrasi total flavonoid dari kurva standar (mg/ml)

V = Volume ekstrak (ml)

m = Massa ekstrak (mg)

BAB IV

DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

A. Deskripsi Data

1. Penyiapan Simplisia

Serbuk korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 500 gram.

2. Ekstraksi

Ekstrak etanol korteks batang salam yang diperoleh dari maserasi simplisia yaitu 5,9 g, sehingga didapatkan rendemen 1,18 %.

3. Penapisan Fitokimia

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) adalah alkaloid, fenolat, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid.

Tabel 4.1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

No.	Golongan Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Fenolat	+
3	Flavonoid	+
4	Saponin	+
5	Tanin	+
6	Triterpenoid	+
7	Steroid	+

Keterangan:

+ = positif

- = negatif

4. Uji Antioksidan

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH dilakukan dengan mengukur absorpsi larutan pada rentang 505 – 530 nm. Hasil pengukuran absorpsi larutan DPPH disajikan dalam Lampiran 1. Berdasarkan hasil pengukuran, larutan DPPH memiliki absorpsi maksimal 0,9040 cm. Nilai absorpsi maksimal tersebut terletak pada panjang gelombang 516 nm.

b. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam

Absorbansi larutan ekstrak etanol korteks batang salam diukur pada panjang gelombang 516 nm dengan variasi konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$, 40 $\mu\text{g/ml}$, dan 50 $\mu\text{g/ml}$. Nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak digunakan untuk menentukan nilai persentase penghambatan (%I) ekstrak etanol korteks batang salam terhadap radikal bebas DPPH.

Tabel 4.2 Persentase penghambatan DPPH oleh ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

No.	[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	% I
1	10	28,8348
2	20	36,0251
3	30	44,8746
4	40	50,7743
5	50	59,9558

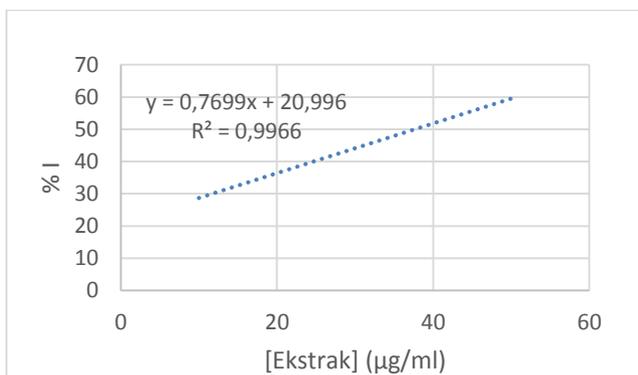
Keterangan:

[Ekstrak] = Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)

% I = Persentase penghambatan

Berdasarkan hasil penggambaran kurva persentase penghambatan terhadap konsentrasi

larutan ekstrak etanol korteks batang salam pada Gambar 4.1, persamaan regresi linear ekstrak etanol korteks batang salam adalah $y = 0,7699x + 20,996$ dengan $R^2 = 0,9966$. Penentuan nilai IC_{50} dengan mensubstitusikan “y” dengan angka 50, karena kita mencari nilai konsentrasi penghambatan 50%. Lalu, nilai IC_{50} diwakili oleh nilai “x” yang diperoleh diakhir perhitungan. Cara perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 10.b. Berdasarkan hasil perhitungan, maka nilai IC_{50} ekstrak sebesar 37,6724 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 4.1 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

Keterangan:

[Ekstrak] = Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)

% I = Persentase penghambatan

c. Uji Antioksidan Senyawa Pembanding

1) Asam galat

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 516, berikut persentase penghambatan DPPH oleh senyawa pembanding asam galat dan kuersetin:

Tabel 4.3 Persentase penghambatan DPPH oleh asam galat dan kuersetin

No.	Asam Galat		Kuersetin	
	[AG] ($\mu\text{g/ml}$)	% I	[K] ($\mu\text{g/ml}$)	% I
1	1	28,98	0,5	37,79
2	2	45,94	0,75	46,57
3	3	56,86	1	51,47
4	4	66,41	1,25	56,64
5	5	75,37	1,5	64,27

Keterangan:

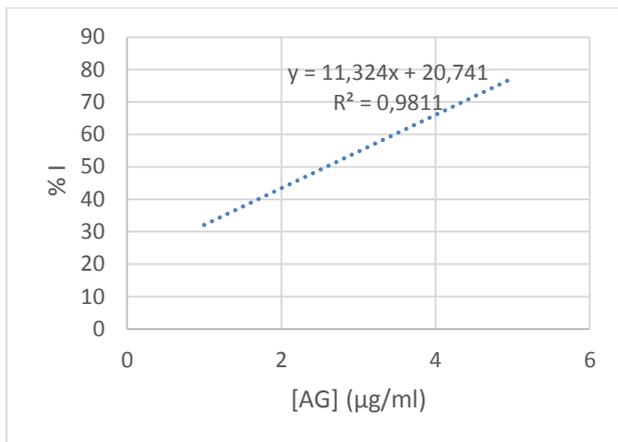
[AG] = Konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$)

[K] = Konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/ml}$)

% I = % Penghambatan

Persamaan regresi linear asam galat dan kuersetin yaitu $y = 11,324x + 20,741$ dengan

$R^2 = 0,9811$ dan $y = 25,206x + 26,143$ dengan $R^2 = 0,9891$. Berdasarkan hasil perhitungan, IC_{50} senyawa pembanding asam galat sebesar $2,5838 \mu\text{g/ml}$ dan kuersetin sebesar $0,9465 \mu\text{g/ml}$.

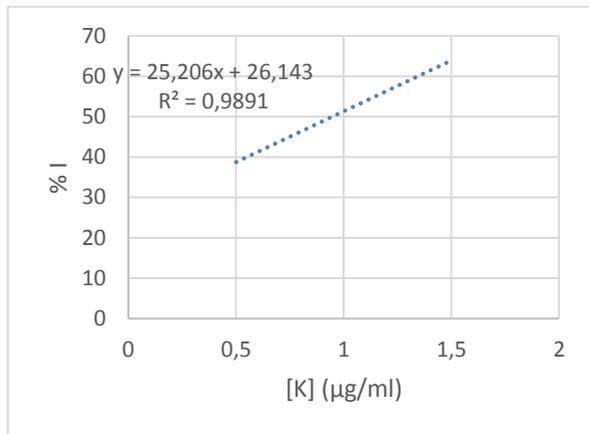


Gambar 4.2 Kurva persamaan regresi linear aktivitas antioksidan asam galat

Keterangan:

[AG] = Konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$)

% I = Persentase penghambatan



Gambar 4.3 Grafik persamaan regresi linear aktivitas antioksidan kuersetin

Keterangan:

[AG] = Konsentrasi asam galat (µg/ml)

% I = Persentase penghambatan

5. Uji Kandungan Total Fenolat

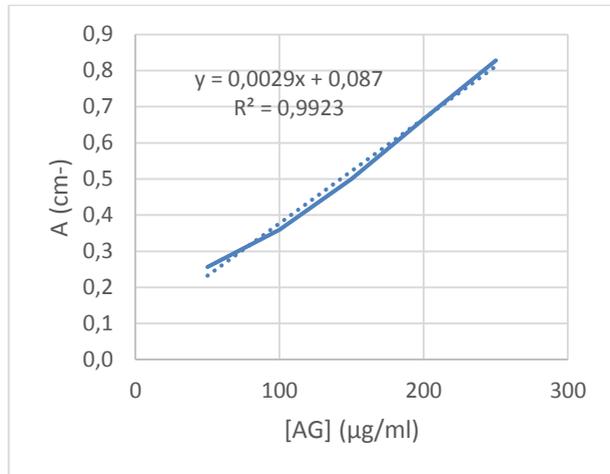
a. Optimasi Panjang Gelombang Reagen Folin-Ciocalteu

Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan dengan mengukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 740 – 785 nm. Berdasarkan kurva optimasi panjang gelombang pada gambar Lampiran 5, absorbansi

maksimalnya adalah 0,2657 cm dengan panjang gelombang maksimal pada 760 nm.

b. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Absorbansi larutan asam galat diukur pada panjang gelombang 760 nm dengan variasi konsentrasi 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200, µg/ml, dan 250 µg/ml. Hasil pengukuran absorbansi ditunjukkan dalam Lampiran 6. Berdasarkan kurva kalibrasi asam galat pada gambar 4.4, persamaan regresi linearnya yaitu $y = 0,0029x + 0,087$ dengan $R^2 = 0,9923$.



Gambar 4.4 Kurva kalibrasi asam galat pada uji kandungan total fenolat

Keterangan:

[AG] = Konsentrasi asam galat (µg/ml)

A = Absorbansi (cm^{-1})

c. Absorbansi Ekstrak

Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam pada panjang gelombang 760 nm adalah 2,2153 cm^{-1} .

Tabel 4.4 Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) pada uji kandungan total fenolat

[Ekstrak] ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	A (cm^{-1})			\bar{A} (cm^{-1})
	1	2	3	
2000	2,22	2,216	2,21	2,2153

Keterangan:

[Ekstrak] = Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-1})

\bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

Nilai absorbansi ekstrak yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan yang didapatkan dari kurva kalibrasi asam galat pada Gambar 4.4 mewakili "y". Kandungan total fenolat dalam larutan uji diwakili oleh nilai "x". Cara perhitungan kandungan total fenolat dalam ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 11. Berdasarkan hasil

perhitungan, kandungan total fenolat dalam ekstrak sebanyak 366,9483 mg GAE/g ekstrak.

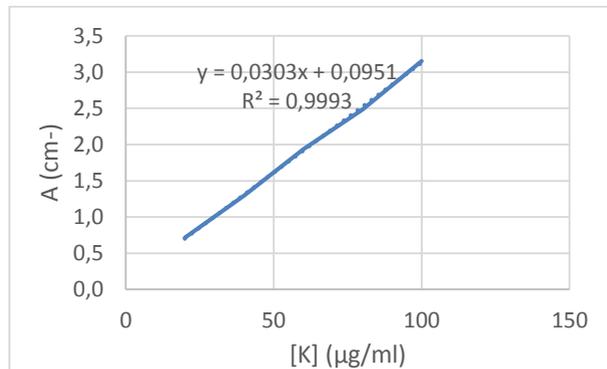
6. Uji Kandungan total flavonoid

a. Optimasi Panjang Gelombang Reagen $AlCl_3$

Penentuan panjang gelombang maksimal reagen $AlCl_3$ dilakukan dengan mengukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 405 – 440 nm. Berdasarkan kurva optimasi pada Lampiran 7, absorbansi maksimalnya yaitu 0,5090 cm^{-1} dengan panjang gelombang maksimal pada 423 nm.

b. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Absorbansi larutan kuersetin diukur pada panjang gelombang 423 nm dengan variasi konsentrasi 20 $\mu g/ml$, 40 $\mu g/ml$, 60 $\mu g/ml$, 80, $\mu g/ml$, dan 100 $\mu g/ml$. Hasil pengukuran absorbansi ditunjukkan dalam Lampiran 8. Nilai absorbansi dari konsentrasi-konsentrasi yang berbeda tersebut nantinya digunakan sebagai kurva kalibrasi untuk mengukur kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam. Persamaan regresi linear yang didapatkan adalah $y = 0,0303x + 0,0951$ dengan $R^2 = 0,9993$.



Gambar 4.5 Kurva persamaan regresi linear kuersetin pada uji kadar flavonoid total

Keterangan:

[K] = Konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-1})

c. Absorbansi Ekstrak

Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam pada panjang gelombang 423 nm adalah 0,3503 cm^{-1} .

Tabel 4. 5 Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) pada uji kandungan total flavonoid

No.	[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-1})			\bar{A} (cm^{-1})
		1	2	3	
1	2000	0,35	0,351	0,35	0,3503

Keterangan:

[Ekstrak] = Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-1})
 \bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

Nilai absorbansi ekstrak yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan yang didapatkan dari kurva kalibrasi asam galat pada Gambar 4.5 mewakili “y”. Kandungan total fenolat dalam larutan uji ditunjukkan oleh nilai “x”. Cara perhitungan kandungan total flavonoid dalam ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 12. Berdasarkan hasil perhitungan, kandungan total flavonoid dalam ekstrak sebanyak 4,21 mg QE/g ekstrak.

B. Analisis Data

1. Penyiapan Simplisia

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). Korteks batang salam diperoleh dari Mangkang, Kota Semarang. Penyerbukan sampel bertujuan untuk memaksimalkan interaksi antara pelarut etanol dengan simplisia, sehingga diharapkan seluruh metabolit sekunder dapat terekstrak. Proses penyerbukan tidak boleh terlalu halus, karena akan

mempersulit penyaringan yang dapat mengakibatkan hasil penyaringan tercampur partikel-partikel halus dari simplisia (Devi dan Erwin, 2015). Proses pengeringan dilakukan di dalam ruangan yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung agar tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam simplisia.

2. Ekstraksi

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih untuk menghindari rusaknya senyawa metabolit sekunder yang tidak stabil pada suhu tinggi (Mukhriani, 2014). Maserasi dilakukan secara bertingkat, yaitu dengan pelarut yang berbeda kepolarannya, mulai dari yang non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), dan polar (etanol 70%). Hal ini dilakukan agar kandungan yang bersifat non polar larut dalam pelarut n-heksan, lalu yang semi polar larut dalam etil asetat, dan yang polar larut dalam pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diuji aktivitas antioksidannya adalah ekstrak dari pelarut etanol 70%.

Penggunaan etanol 70% karena ekstrak etanol 70% daun salam mampu menghambat radikal bebas

DPPH (Sutrisna, 2016). Sarasvaty (2010) juga melaporkan bahwa penggunaan pelarut etanol 70% dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder pada tanaman genus *Syzygium*. Ekstrak etanol daun salam juga dilaporkan memiliki kandungan total fenolat dan kemampuan mereduksi yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air dan n-heksan daun salam (Safriani, Erfiza, dan Arpi, 2015).

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Dirjen POM DEPKES RI, 2000). Pada proses penarikan senyawa kimia dari simplisia berlaku prinsip kelarutan *like dissolve like* atau yang sejenis akan melarutkan yang sejenis (Chang, 2005). Pelarut polar akan melarutkan zat yang bersifat polar, begitu juga sebaliknya. Penggunaan etanol yang merupakan pelarut organik dengan gugus hidroksil yang bersifat polar diharapkan mampu mengekstrak lebih banyak senyawa metabolit sekunder dalam simplisia, karena senyawa yang diduga paling berperan sebagai antioksidan dalam tanaman salam adalah senyawa fenolat (Har dan Ismail, 2012; Ruchiyat, 2013). Etanol juga merupakan pelarut yang aman, tidak bersifat

toksik (Dirjen POM DEPKES RI, 2000). Selain itu, etanol juga merupakan pelarut yang mempunyai kemampuan penyari dengan polaritas yang lebar, sehingga tetap bisa mengekstrak senyawa non polar dalam simplisia (Samudra, 2014). Sultana, Anwar, dan Ashraf (2009) melaporkan bahwa penggunaan etanol encer lebih optimal dalam mengekstrak senyawa fenolat dibandingkan dengan etanol absolut.

Maserasi merupakan jenis ekstraksi yang berprinsip pada pencapaian kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam sel tanaman dengan konsentrasi senyawa dalam pelarut (Dirjen POM DEPKES RI, 2000; Handa, dkk, 2008; Mukhriani, 2014). Perendaman simplisia selama proses maserasi bertujuan untuk merusak dinding sel tanaman sehingga dapat mengekstrak senyawa-senyawa kimia yang larut (Azwanida, 2015) dan berdifusi untuk mencapai kesetimbangan konsentrasi. Senyawa yang terekstrak tersebut dipisahkan dari simplisia dengan penyaringan. Maserat yang diperoleh kemudian dievaporasi pelarutnya pada suhu 45 – 50 °C dengan kecepatan putaran 50 rpm dengan *vacuum rotary evaporator*. Penggunaan vakum memungkinkan pelarut untuk menguap pada suhu yang lebih rendah,

sehingga tidak merusak senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak (Devi dan Erwin, 2015). Ekstrak etanol hasil evaporasi lalu dikeringkan dengan *freeze-dryer*. Rendemen ekstrak yang diperoleh 1,18 %.

3. Penapisan Fitokimia

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol korteks batang salam adalah alkaloid, fenolat, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid. Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan senyawa alkaloid, fenolat, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid dalam tanaman salam (Liliwirianis, 2010; Lelono, 2012; Ruchiyat, 2013).

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, ekstrak etanol korteks batang salam mengandung senyawa fenolat berupa flavonoid dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa yang telah lama dikenal sebagai antioksidan. Hasil penelitian Badmus, dkk (2016) melaporkan bahwa senyawa flavonoid kuersetin-3-o-glukosida mampu menangkal radikal bebas. Amarowicz (2007) menyatakan bahwa tanin tidak hanya berperan sebagai antioksidan primer (sebagai donor hidrogen atau elektron), tetapi juga berperan

sebagai antioksidan sekunder. Tanin terkondensai (epigallocatekin) dari tanaman flamboyan dilaporkan mampu menghambat radikal bebas (Feng, ddk, 2014).

Alkaloid dilaporkan memiliki kemampuan antioksidan (Kaur dan Arora, 2015). Tiong, dkk (2013) melaporkan bahwa alkaloid vindolicine III lebih kuat aktivitas antioksidannya dalam menangkal radikal bebas DPPH dibandingkan dengan asam askorbat.

Senyawa golongan terpenoid juga menunjukkan aktivitas antioksidan (Kasote, dkk, 2015). Senyawa golongan terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan adalah saponin (Ashraf, dkk, 2013). Gulcin, dkk (2004) melaporkan bahwa senyawa hederasaponin-C dalam tanaman Ivy berperan sebagai antioksidan.

Senyawa metabolit sekunder yang diduga paling berperan sebagai antioksidan dalam salam adalah senyawa golongan fenolat (Har dan Ismail, 2012; Safriani, Arpi, dan Erfiza, 2015). Hasil penelitian Othman, dkk (2014) menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kandungan total fenolat dengan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kandungan total fenolat, semakin tinggi pula aktivitas

antioksidannya. Kasote, dkk (2015) menyatakan bahwa di antara senyawa-senyawa metabolit sekunder, senyawa fenolat merupakan yang paling berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan senyawa fenolat berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron, sebagai pereduksi, dan mengkhelasi logam. Senyawa fenolat juga memiliki kemampuan donor hidrogen yang kuat (Brewer, 2011).

4. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam diuji dengan metode penangkalan radikal bebas DPPH. Metode DPPH dipilih karena mampu mengukur aktivitas antioksidan secara efektif, cepat, dan sederhana (Shalaby dan Shanab, 2013). Metode DPPH juga mampu mengukur aktivitas antioksidan sampel secara keseluruhan, tidak hanya pada komponen antioksidan tertentu saja (Prakash, Rigelhof, dan Miller, 2001). Selain itu, metode DPPH juga merupakan metode yang baik untuk pelarut-pelarut organik, terutama alkohol (Apak, 2007).

a. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Optimasi panjang gelombang DPPH bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimal DPPH melalui pengukuran absorbansi. Panjang gelombang maksimal merupakan panjang gelombang dengan absorbansi terbesar. Larutan DPPH mudah terdegradasi oleh adanya cahaya, oleh karena itu inkubasi larutan uji dilakukan dalam ruang gelap. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer visible pada rentang panjang gelombang 505 - 530 nm. Pada setiap panjang gelombang, dilakukan tiga kali pengulangan.

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi, DPPH memiliki absorbansi maksimal 0,9040 dan panjang gelombang maksimalnya yaitu 516 nm. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan Tirtizis dan Bartos (2010) bahwa larutan DPPH dilaporkan memiliki panjang gelombang maksimal berkisar pada 515 - 517 nm.

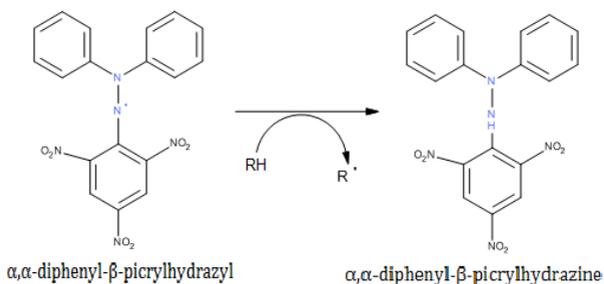
Nilai absorbansi larutan DPPH ini dibandingkan dengan absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam untuk mengetahui persentase penghambatan radikal bebas DPPH

oleh ekstrak etanol korteks batang salam dan senyawa pembanding.

b. Uji Aktivitas Antioksidan

Penambahan ekstrak etanol korteks batang salam memudahkan warna ungu larutan DPPH. Memudarnya warna ungu tersebut menunjukkan bahwa radikal bebas DPPH telah tereduksi oleh ekstrak etanol daun salam. Selain dari warna, adanya proses reduksi radikal bebas juga terlihat dari penurunan absorpsi larutan uji (Apak, 2007).

Antioksidan dalam ekstrak etanol korteks batang salam mendonorkan elektron bagi radikal bebas DPPH. Elektron ganjil pada atom nitrogen dalam radikal bebas DPPH menerima elektron dari antioksidan sehingga radikal bebas DPPH (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) berubah menjadi DPPH-H (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazine) yang bersifat nonradikal (Molyneux, 2003).



Gambar 4.6 Mekanisme reaksi reduksi radikal bebas DPPH (Prakash, Rigelhof, Miller, 2001)

Adanya senyawa fenolat dalam ekstrak etanol korteks batang salam diduga berperan sebagai donor hidrogen bagi radikal bebas DPPH. Har dan Ismail (2012) menyatakan bahwa senyawa fenolat dalam salam, khususnya asam galat dan kafeat, merupakan senyawa utama yang mampu meredam radikal bebas. Peranan senyawa fenolat sebagai antioksidan juga telah dibuktikan oleh Safriani, dkk (2011), Perumal, dkk, (2012) dan Othman, dkk (2014) yang menyatakan bahwa semakin tinggi kandungan fenolat dalam sampel semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini berkaitan dengan kemampuan donor hidrogen yang kuat oleh senyawa fenolat (Brewer, 2011).

Berdasarkan % penghambatan radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol daun salam pada masing-masing konsentrasi uji, persamaan regresi linear yang didapatkan adalah $y = 0,7699x + 20,996$, sehingga konsentrasi larutan ekstrak etanol korteks batang salam yang mampu meredam 50% konsentrasi larutan DPPH (IC_{50}) yaitu 37,6724 $\mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian Sutrisna, dkk (2016) menunjukkan IC_{50} ekstrak etanol 70% daun salam adalah sebesar 27,80 $\mu\text{g/ml}$.

Senyawa pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam galat dan kuersetin. Keduanya merupakan senyawa golongan fenolat. Asam galat dan kuersetin dipilih karena senyawa metabolit sekunder yang diduga berperan sebagai antioksidan dalam ekstrak adalah senyawa fenolat. Nilai IC_{50} asam galat dan kuersetin yaitu 2,5838 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,9465 $\mu\text{g/ml}$. Jika dibandingkan dengan ekstrak, nilai IC_{50} ekstrak etanol daun salam memiliki IC_{50} yang jauh lebih besar. Semakin kecil IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat. Jadi aktivitas antioksidan senyawa pembanding lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol korteks batang

salam. Hal ini dikarenakan ekstrak yang diuji masih berupa ekstrak kasar dengan berbagai macam senyawa yang terkandung di dalamnya (Ukieyanna, 2012) sehingga kandungan senyawa fenolat yang berperan sebagai antioksidan lebih rendah dibandingkan senyawa pembanding (Dewi, 2012).

Nilai IC_{50} tersebut digunakan untuk menentukan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*). Nilai AAI ini berguna untuk mengetahui kategori kekuatan antioksidan sampel yang diuji. Berdasarkan hasil perhitungan, nilai AAI ekstrak etanol korteks batang salam adalah 1,045, sedangkan nilai asam galat dan kuersetin yaitu 15, 25 dan 41, 63. Berdasarkan nilai AAI tersebut, aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam termasuk kategori kuat sehingga ekstrak etanol korteks batang salam berpotensi sebagai antioksidan alami. Asam galat dan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat.

5. Kandungan total fenolat

a. Optimasi Panjang Gelombang Reagen Folin-Ciocalteu

Optimasi panjang gelombang reagen Folin-Ciocalteu bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimal, yaitu panjang gelombang dengan absorbansi terbesar. Reagen Folin-Ciocalteu mudah rusak karena adanya cahaya, oleh karena itu inkubasi larutan uji dilakukan dalam ruang gelap. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer visible pada rentang panjang gelombang 740 - 785 nm, karena absorbansi maksimal reagen Folin-Ciocalteu berkisar 765 nm (Apak, 2007). Hasil pengukuran absorbansi menunjukkan bahwa absorbansi maksimal reagen Folin-Ciocalteu adalah 0,2657 cm⁻¹ dengan panjang gelombang maksimal 760 nm.

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Kurva kalibrasi asam galat dibuat dengan mengukur absorbansi larutan asam galat pada panjang gelombang 760 nm dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi larutan asam galat yang digunakan yaitu 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200, µg/ml, dan 250 µg/ml. Nilai

absorbansi dari masing-masing konsentrasi tersebut diplotkan terhadap konsentrasi yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi.

Berdasarkan kurva kalibrasi asam galat pada Gambar 4. 6, persamaan regresi linearnya yaitu $y = 0,0029x + 0,087$ dengan R^2 0,9923. Persamaan regresi linear yang didapatkan tersebut digunakan untuk menentukan kandungan total fenolat ekstrak etanol batang salam yang ekuivalen dengan kandungan asam galat atau *gallic acid equivalent* (GAE).

c. Pengukuran Kandungan Total Fenolat Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)

Pengukuran kandungan total fenolat dalam ekstrak etanol korteks batang salam dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Metode ini berdasarkan reaksi reduksi reagen Folin-Ciocalteu yang tersusun atas tungsten dan molybdenum oksida. Senyawa fenolat dalam ekstrak akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu yang menaikkan nilai absorbansi dan merubah warna larutan menjadi biru. Besarnya perubahan tersebut

berhubungan dengan banyaknya kandungan total fenolat dalam ekstrak (Apak, 2007).

Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ adalah 2,2153 cm^{-1} . Nilai absorbansi ini disubstitusikan ke persamaan yang telah didapatkan dari kurva kalibrasi asam galam. Kandungan total fenolat dalam ekstrak dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat atau *gallic acid equivalent* untuk setiap gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Berdasarkan hasil perhitungan, kandungan total fenolat dalam ekstrak yaitu 366,9483 mg GAE/g ekstrak. Hasil penelitian Perumal, dkk (2012) melaporkan bahwa kandungan total fenolat dalam daun salam sebanyak 333,75 mg GAE/g ekstrak daun.

6. Kandungan total flavonoid

a. Optimasi Panjang Gelombang Reagen AlCl_3

Penentuan panjang gelombang reagen AlCl_3 dilakukan dengan pembacaan absorbansi larutan pada rentang panjang gelombang 405 – 440 nm. Hasil pengukuran absorbansi menunjukkan bahwa absorbansi maksimal reagen AlCl_3 0,5090 cm^{-1} dengan panjang gelombang maksimal 423 nm.

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Absorbansi larutan kuersetin diukur pada panjang gelombang 423 nm. Konsentrasi larutan kuersetin yang digunakan yaitu 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80, µg/ml, dan 100 µg/ml. Nilai absorbansi terhadap konsentrasi larutan kuersetin tersebut diplotkan untuk membuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi kuersetin adalah $y = 0,0303x + 0,0951$. Persamaan ini digunakan untuk mengukur kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam berdasarkan nilai absorbansi ekstrak. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin atau *quercetin equivalent* (QE).

c. Kandungan total flavonoid Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)

Kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam diukur dengan metode kolorimetri $AlCl_3$. Pengukuran kandungan total flavonoid berdasarkan pada pembentukan kompleks asam stabil oleh $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom karbon nomor 4 dan gugus hidroksil pada atom karbon nomor 3 atau atom

karbon nomor 5 dari flavon atau flavonol (Bhaigyabati, Devi, dan Bag, 2014).

Absorbansi larutan uji setelah ditambahkan ekstrak etanol korteks batang salam dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ menjadi 0,3503 cm^{-1} . Nilai absorbansi ini disubstitusikan ke persamaan yang telah didapatkan dari kurva kalibrasi kuersetin. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak dinyatakan sebagai mg ekuivalen kuersetin atau *quercetin equivalent* untuk setiap gram ekstrak (mg QE/g ekstrak). Berdasarkan hasil perhitungan, kandungan total flavonoid dalam ekstrak yaitu 4,21 mg QE/g ekstrak. Kandungan total flavonoid yang dilaporkan Oktavia (2011) dalam ekstrak daun salam sebanyak 12,7 mg QE/g ekstrak.

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak etanol korteks batang salam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} 37,6724 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan AAI 1,045. Kandungan total fenolatnya yaitu 366,9483 mg GAE/g ekstrak. Kandungan total flavonoidnya 4,21 mg QE/g ekstrak. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol korteks batang salam berpotensi sebagai antioksidan alami.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisisnya, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. IC_{50} ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) adalah 37,67 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan nilai AAI, kekuatan antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam termasuk kategori kuat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol korteks batang salam berpotensi sebagai antioksidan alami.
2. Kandungan total fenolat dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) adalah 366,95 mg GAE/g ekstrak.
3. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) adalah 4,21 mg QE/g ekstrak.

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode lain untuk membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*).

2. Diperlukan penelitian lebih lanjut meliputi fraksinasi dan karakterisasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*) untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarowicz, Ryszard. 2007. Tannins: The New Natural Antioxidant?. Editorial. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109: 549 – 551.
- Antolovich, Michael, dkk. 2002. Methods for Testing Antioxidant Activity: Critical Review. *The Analyst.* 127: 183 - 198.
- Apak, Resat, dkk. 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the Cuprac Assay. *Molecules.* 12: 1420 - 3049.
- Ashraf, Mehdi Farshad, dkk. 2013. Assessment of Antioxidant and Cytotoxicity Activities of Saponin and Crude Extracts of *Chlorophytum borivilianum*. *The Scientist World Journal.* 216894: 1 – 7.
- Azwanida, N. N.. 2015. A Review on Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength, and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants.* 4 (3): 1 – 6.
- Badmus, Jelili A., dkk. 2016. Isolation and Antioxidant Activity of Flavonoid from *Holarrhena floribunda* (G.Don) Leaves. *Acta Biochimica Polonica.* 63 (2): 353 – 358.
- Bhaigyabati, Th., P Grilhanjali Devi, dan , G. C. Bag. 2014. Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Aqueous Rhizome Extract of Three *Hedychium* Speciesnof

- Manipur Valley. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Sciences*. 5 (5): 970 – 976.
- Blois, Marsaden S. 1985. Antioxidant Determinations by TheUse of A Stable Free Radical. *Nature*. 181 (4617): 1199 – 1200.
- Brewer, M. S.. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanism, of Action, And Potential Applications. *Comprehensive Reviews on Food Science and Food Safety*. 10: 221 – 247.
- Chang, Raymod. 2005. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Jilid 2. Edisi III. Terjemahan M. Abdulkadir Martoprawiro, dkk. Jakarta: Erlangga.
- Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: Trobus Agriwidya.
- Darusman, Latifah K, Wulan Tri Wahyuni, & Farahdina Alwi. 2013. Actylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of *Syzygium cumini*, *S. aromaticum*, and *S. polyanthum* from Indonesia. *Journal of Biological Sciences*. 13 (5): 412 - 416.
- Devi, Anggraini S. Dan Erwin. 2015. *Uji Fitokimia dan Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Ekstrak Daun Kelakai Stenochlaena palustris*. Prosiding Seminar Tugas Akhir FMIPA Universitas Mulawarman. Samarinda Juni 2015.

- Dirjen POM Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Eleanore, Yafet. 2013. *Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sengon (Paraserianthes falcataria (L) Nielsen) Menggunakan Metode DPPH*. Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Feng, Hui-Ling, dkk. 2014. Isolation and Purification of Condensed Tannins from Flamboyant Tree and Their Antioxidant and Antityrosinase Activities. *Appl Biochem Biotechnol*. 173: 179 – 192.
- Gowry, S. Shyamala dan K. Vasantha. 2010. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Syzygium cumini* (L.) Myrtaceae Leaves Extracts. *International Journal of Pharmtech Research*. 2 (2): 1569 - 1573.
- Gulcin, Ilhami, dkk. 2004. Antioxidant Activity of Saponins Isolated from Ivy: α -Hederin, hederasaponin-C, Hederacolchiside-E, and Hederacolchiside-F. *Planta Med*. 70: 561 – 563.
- Handa, Ssukhdev Swami, dkk. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science and High Technology.
- Har, Lee Wei dan Intan Safinar Ismail. 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoids of

- Syzygium polyanthum* (Wight) Walp Leaves. *International Journal of Medicinal Arom. Plants.* 2 (2): 219 - 228.
- Harborne, J. B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Bandung: Penerbit ITB Bandung.
- Hasanah, Nunung. 2015. Aktivitas Antioksidan ekstrak Etanol Daun Salam. *Jurnal Pena Medika.* 5 (1): 55 - 59.
- Herbie, Tandi. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat: 226 Tumbuhan Obat untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh.* Yogyakarta: Octopus.
- Indrayana, Roni. 2008. *Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (Syzygium polyanthum [Wight.] Walp.) pada Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl4).* Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Iqbal, Muhammad dan Kusumawati Idha. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Profil Kromatografi Ekstrak Etanol 96% Daun Syzygium cumini, Syzygium aromaticum, Syzygium polyanthum, dan Syzygium aquaeum:* Ringkasan. KKB KK2 FF 188/11.

- Kabel, Ahmed M.. 2014. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition And Health*. 2 (3): 35 - 38.
- Kabera, Justin N., dkk. 2014. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function, and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: 377 - 392.
- Kasote, Deepak M., dkk. 2015. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Application. *International Journal of Biological Sciences*. 11 (8): 982 - 991.
- Kaur, Rajbir dan Saroj Arora. 2015. Alkaloids-Important Therapeutic Secondary Metabolites of Plant Origin. *Journal of Critical Reviews*. 2 (3): 1 - 8.
- Kusuma, Irian Wijaya, dkk. 2011. Biological Activity and Phytochemical of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum*, and *Zingiber purpurea*. *Journal Acupunct Meridian Stud*. 4 (1): 75 - 79.
- Lelono, Raden Athur Ario. 2012. Potential Antioxidative and Antifungal Activities from *Eugenia polyantha* Wight. *Widyariset*. *Widyariset*. 15(2): 437 - 446.
- Liliwirianis N, dkk. 2011. Preliminary Studies on Phytochemical Screening of Ulam and Fruit from Malaysia. *E-Journal of Chemistry*. 8 (S1): S285 - S288.

- Lone, Abid A., dkk. 2013. Free Radicals and Antioxidants: Myths, Facts, Mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 7 (3): 91 – 113.
- Molyneux, Philip. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2): 211 – 219.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2).
- Murni, Dewi. 2012. *Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan Artemia salina Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Asa Tungga*. Skripsi. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Indonesia.
- Octavia, Julia Devy. 2011. *Pengoptimuman Ekstraksi Falvonoid Daun Salam (Syzygium polyanthum) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Othman, Azizah, dkk. 2014. Phenolics, Flavonoids Content and Antioxidant Activities of 4 Malaysian Herbal Plants. *International Food Reserch Journal*. 21 (2): 759 - 766.
- Perumal, Shanmugapriya, dkk. 2012. Potential Antiradical Activity and Cytotoxicity Assessmentt of *Zizipus*

mauritiana and *Syzygium polyanthum*. *International Journal of Pharmacology*. 8 (6): 535 - 541.

Prakash, Aruna, Fred Rigelhof, & Eugene Miller. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories. Diunduh di www.medallionlabs.com pada tanggal 8 Nopember 2016.

Raharjo, Tri Joko. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Rasyidi, Ratu Dwi Gustia, dkk. 2015. *Skrining Fitokimia dan Uji KLT Ekstrak Metanol Beberapa Tumbuhan yang Berpotensi sebagai Obat Tradisional di Lampung*. Seminar Nasional Sains dan Teknolodi VI Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung. Lampung 3 November 2015.

Rizki, Muhammad Ikhwan, dan Ester Magdalena Hariandja. *Review: Aktivitas Farmakologis, Senyawa Aktif, dan Mekanisme Kerja Daun Salam (Syzygium polyanthum)*. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik 5. Padang 6 - 7 November 2015.

Rosanti, Dewi. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Ruchiyat. 2013. *Analisis Fisikokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Daun Salam (Syzygium*

polyanthum [Wight] Walp.) Asal Jawa Barat. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 4. (2): 68 - 84.

Safriani, Novi, dkk. 2011. *Antioxidat Activities of Curry Leaves (Murayya koeniigi) and Salam Leaves (Eugenia polyanthha)*. Proceedings of TheAnnual International Conference Syiah Kuala University. Banda Aceh 29 - 30 November 2011.

Safriani, Novi, Normalina Arpi, & Novia Mehra Erfiza. 2015. Potency of Curry (*Murayya koeniigi*) and Salam Leaves (*Eugenia polyanthha*) Leaves as Natural Antioxidant Sources. *Pakistan Journal of Nutrition*. 14 (3): 131 - 135.

Samudra, Arum. 2014. *Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum Wight) dari Tiga Tempat Tumbuh di Indonesia*. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kesehatan dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.

Sarasvaty, Vienna. 2010. Alpha Glucosidase Inhibitory Activity from *Syzygium* Sp. *Jurnal Teknologi Indonesia*. 33 (1): 33 - 37.

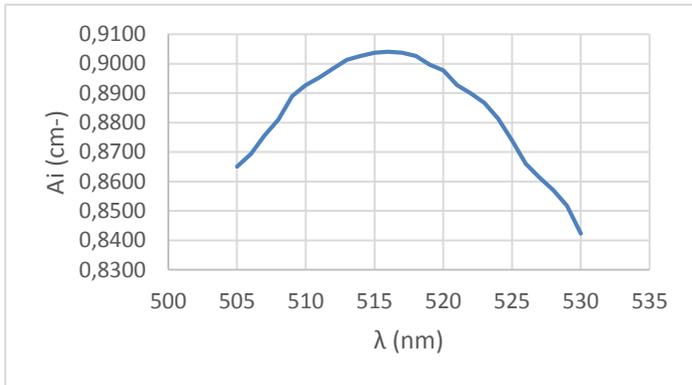
Sarma, Abheri Das, Anisur Rahaman Mallick, dan A. K. Ghosh. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Condition: An Overview. *International journal of Pharma Sciences and Research*. 1 (3). 185 – 192.

- Scherer, Rodrigo dan Helena Teixeira Godoy. 2009. Antioxidant Activiti Index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Method. *Food Chemistry*. 112: 654 – 658.
- Shalaby, Emad A. Dan Sanaa M.M. Shanab. 2013. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7 (10): 528 - 539.
- Shimamura, Tomoko, dkk. 2014. Applicability of the DPPH Assay for Evaluating the Antioxidant Capacity of Food Additives: Inter-laboratory Evaluation Study. *Analytical Sciences*. 30: 717 – 721.
- Sinaga, Agnes Filadelfia, Widdhi Boddhi, dan Widya Astuti Lolo. 2014. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus* L.) yang diinduksi Potasium Oksonat. *Pharmacon*. 3 (2): 2302 - 2493.
- Singh, Sudhakar dan R. P. Singh. 2008. In Vitro Methods of Assay of Antioxidant: An Overview. *Food Reviews International*. 24 (4): 392 – 415.
- Studiawan, Herra dan Mulja Hadi Santosa. 2005. Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia polyantha* pada Mencit yang diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan*. 21 (2): 62 – 65.

- Sultana, Bushra, Farooq Anwar, dan Muhammad Ashraf. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*. 14: 2167 – 2180.
- Sutrisna, EM, dkk. 2016. Antioxidant and Antidiabetic Activity of 70% Ethanolic Extract of *Syzygium polyanthum* (Wight) Leaf from Indonesia. *International Journal of Researching Ayurveda Pharm*. 7 (2): 214 - 216.
- Tiong, Soon Huat, dkk. 2013. Antidiabetic and Antioxidant Properties of Alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Molecules*. 18: 9770 – 9784.
- Tirzitis, Gunars, dan Grzegorz Bartosz. 2010. Determination of Antiradical and Antioxidant Activity: Basic principles and New Insights. *Acta Biochimica Polonica*. 57 (1): 139 – 142.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2002. Taksonomi Tumbuhan (spermatophyta). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tukiran, dkk. 2016. Analisis Awal Fitokimia pada Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae). Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Workshop. Surabaya 17 Nopember 2016.
- Ukieyanna, Elsha. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan *Suruhan* (*Peperomia*

- pellucida* L. Kunth). Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Verma, Nidhi dan Sudhir Shukla. 2015. Impact of Various Factors Responsible for Fluctuation in Plant Secondary Metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. xxx: 1 – 9.
- Wahlqvist, Mark L. 2013. Antioxidant Relevance to Human Health. *Asia Pac J Clin Nutr*. 22 (2): 171 – 176.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal biotek Medisiana Indonesia*. 3 (2): 59 - 68.
- Widowati, Wahyu. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *JKM*. 7 (2): 1 – 11.
- Widyawati, Tri, dkk. 2015. Anti-diabetic Activity of *Syzygium polyanthum* (Wight.) Leaf Extract, The Most Commonly Use Herb Among Diabetic Patients in Medan, North Sumatera, Indonesia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6 (4): 2320 - 5148.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Wong, Peng Shih, Lai Peng Leong, dan Jen Howe William Koh. 2006. Antioxidant Activities of Aqueous Extracts of Selected Plants. *Food Chemistry*. 99: 775 – 783. m

Yuliana dan Tangking Widarsa. 2014. Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Hitung Sel Kupffer Tikus Hiperglikemik setelah Pemberian Dekok Daun Salam. *Jurnal Veteriner*. 15 (4): 541 - 547.

LAMPIRAN-LAMPIRAN**Lampiran 1. Kurva Optimasi Panjang Gelombang DPPH****Gambar L.1. Kurva optimasi panjang gelombang DPPH**

Keterangan:

A = Absorbansi (cm⁻¹)

λ = Panjang gelombang (nm)

Lampiran 2. Persentase Penghambatan DPPH oleh Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*)

Tabel L.1 Persentase penghambatan DPPH oleh ekstrak etanol korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*)

No.	[Ekstrak] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-})	\bar{A} (cm^{-})	% I
1	10	0,653	0,6433	28,8348
		0,657		
		0,62		
2	20	0,581	0,5783	36,0251
		0,568		
		0,586		
3	30	0,511	0,4983	44,8746
		0,5		
		0,484		
4	40	0,446	0,4450	50,7743
		0,45		
		0,439		
5	50	0,359	0,3620	59,9558
		0,365		
		0,362		

Keterangan:

[Ekstrak] = Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-})

\bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-})

% I = Persentase penghambatan (%)

Lampiran 3. Persentase Penghambatan DPPH oleh Asam Galat

Tabel L.2. Persentase Penghambatan DPPH oleh asam galat

No.	[AG] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-1})	\bar{A} (cm^{-1})	% I
1	1	0,635	0,6420	28,9823
		0,633		
		0,658		
2	2	0,506	0,4887	45,9440
		0,475		
		0,485		
3	3	0,394	0,3900	56,8584
		0,399		
		0,392		
4	4	0,303	0,3037	66,4086
		0,302		
		0,306		
5	5	0,228	0,2227	75,3687
		0,226		
		0,214		

Keterangan:

[AG] = Konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$)A = Absorbansi (cm^{-1}) \bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

% I = Persentase penghambatan (%)

Lampiran 4. Persentase Penghambatan DPPH oleh Kuersetin

Tabel L.3. Persentase penghambatan DPPH oleh kuersetin

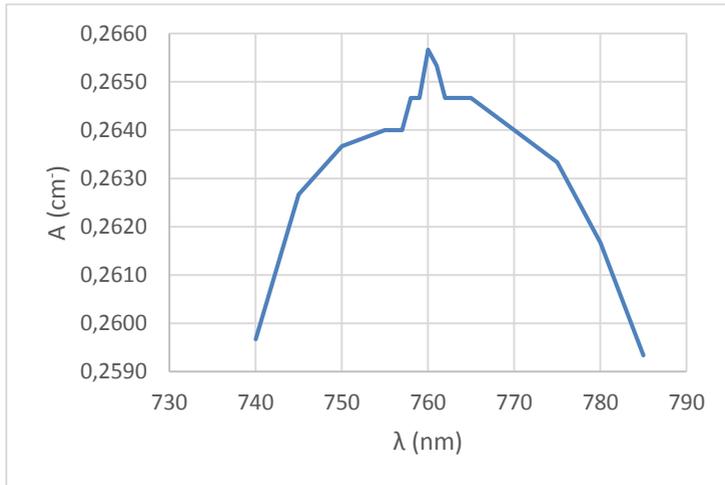
No.	[K] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-1})	\bar{A} (cm^{-1})	% I
1	0,5	0,56	0,5623	37,7950
		0,562		
		0,565		
2	0,75	0,481	0,4830	46,5708
		0,483		
		0,485		
3	1	0,438	0,4387	51,4749
		0,434		
		0,444		
4	1,25	0,391	0,3920	56,6372
		0,393		
		0,392		
5	1,5	0,323	0,3230	64,2699
		0,325		
		0,321		

Keterangan:

[K] = Konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/ml}$)A = Absorbansi (cm^{-1}) \bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

% I = Persentase penghambatan (%)

Lampiran 5. Kurva Optimasi Panjang Gelombang Reagen Folin-Ciocalteu pada Uji Kadar Fenolat Total



Gambar L.2. Kurva optimasi panjang gelombang reagen Folin-Ciocalteu pada uji kadar fenolat total

Keterangan:

A = Absorbansi (cm⁻¹)

λ = Panjang gelombang (nm)

Lampiran 6. Absorbansi asam galat pada uji kadar fenolat total

Tabel L.4. Absorbansi asam galat pada uji kadar fenolat total

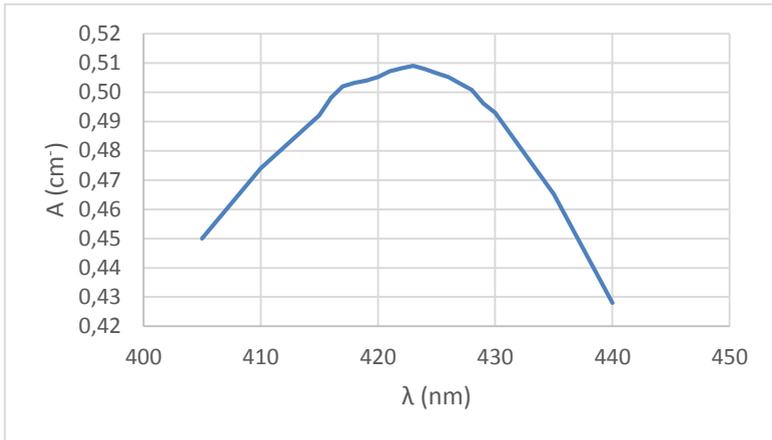
No.	[AG] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-1})			\bar{A} (cm^{-1})
		1	2	3	
1	50	0,257	0,255	0,257	0,2563
2	100	0,358	0,362	0,358	0,3593
3	150	0,498	0,499	0,503	0,5000
4	200	0,664	0,668	0,667	0,6663
5	250	0,824	0,828	0,831	0,8277

Keterangan:

[AG] = Konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-1})

\bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

Lampiran 7. Kurva Optimasi Panjang Gelombang Reagen AlCl_3 Gambar L.3. Kurva Optimasi Panjang Gelombang Reagen AlCl_3

Keterangan:

A = Absorbansi (cm⁻¹)

λ = Panjang gelombang (nm)

Lampiran 8. Absorbansi Kuersetin pada Uji Kadar Flavonoid Total

Tabel L.5. Absorbansi kuersetin pada uji kadar flavonoid total

No.	[K] ($\mu\text{g/ml}$)	A (cm^{-1})			\bar{A} (cm^{-1})
		1	2	3	
1	20	0,712	0,715	0,711	0,7127
2	40	1,284	1,33	1,271	1,2950
3	60	1,94	1,935	1,928	1,9343
4	80	2,483	2,485	2,482	2,4833
5	100	3,155	3,15	3,153	3,1527

Keterangan:

[K] = Konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/ml}$)

A = Absorbansi (cm^{-1})

\bar{A} = Rata-rata absorbansi (cm^{-1})

Lampiran 9. Perhitungan % Randemen Ekstrak

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

$$\% \text{ Randemen} = \frac{5,99}{500 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Randemen} = 1,18 \%$$

Lampiran 10. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

a. Contoh Perhitungan Persentase Penghambatan (% I)

DPPH

$$A_{\text{blanko}} = 0,9040 \text{ cm}^{-1}$$

$$A_{\text{sampel}} = 0,3620 \text{ cm}^{-1}$$

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

$$\% I = \frac{0,9040 \text{ cm}^{-1} - 0,3620 \text{ cm}^{-1}}{0,9040 \text{ cm}^{-1}} \times 100 \%$$

$$\% I = 59,9558 \%$$

b. Contoh Perhitungan Konsentrasi Penghambatan 50% (IC₅₀)

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,7699x + 20,996$.

$$y = ax + b$$

$$50 = 0,7699x + 20,996$$

$$x = \frac{50 - 20,996}{0,7699}$$

$$x = 37,6724$$

Jadi, nilai IC₅₀ sebesar 37,6724 µg/ml.

c. Contoh Perhitungan Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*)

$$[\text{DPPH}] = 39,4 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{IC}_{50} = 37,6724 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{AAI} = \frac{[\text{DPPH}]}{\text{IC}_{50}}$$

$$\text{AAI} = \frac{39,4 \mu\text{g/ml}}{37,6724 \mu\text{g/ml}}$$

$$\text{AAI} = 1,045$$

Lampiran 11. Pengukuran Kandungan Total Fenolat

a. Perhitungan Konsentrasi Fenolat dalam Larutan Uji

Persamaan regresi linear yang diperoleh berdasarkan kurva kalibrasi asam galat yaitu $y = 0,0029x + 0,087$. Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ adalah 2,2153 cm^{-1} . Berdasarkan hasil tersebut, maka:

$$y = ax + b$$

$$2,2153 = 0,0029x + 0,087$$

$$x = \frac{2,2153 - 0,087}{0,0029}$$

$$x = 733,8966$$

Jadi, konsentrasi fenolat dalam ekstrak dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ sebesar 733,8966 $\mu\text{g GAE/ml}$.

b. Perhitungan Kandungan Total Fenolat dalam Ekstrak

$$c = 733,8966 \mu\text{g GAE/ml} = 733,8966 \text{ mg GAE/L}$$

$$V = 0,2 \text{ ml} = 0,0002 \text{ L}$$

$$m = 0,4 \text{ mg}$$

$$C = c \left(\frac{V}{m} \right)$$

$$C = 733,8966 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{GAE} \left(\frac{0,0002 \text{ L}}{0,4 \text{ mg}} \right) \text{ekstrak}$$

$$C = 0,3669483 \text{ mg GAE/mg ekstrak}$$

$$C = 366,9483 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

Lampiran 12. Pengukuran Kandungan Total Flavonoid

a. Perhitungan Konsentrasi Flavonoid dalam Larutan Uji

Persamaan regresi linear larutan kuersetin yaitu $y = 0,0303x + 0,0951$. Absorbansi ekstrak etanol korteks batang salam dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ adalah 0,3503 cm:

$$\begin{aligned} y &= ax + b \\ 0,3503 &= 0,0303x + 0,0951 \\ x &= \frac{0,3503 - 0,0951}{0,0303} \\ x &= 8,4191 \end{aligned}$$

Jadi, konsentrasi fenolat dalam ekstrak dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ sebesar 8,4191 $\mu\text{g QE/ml}$.

b. Perhitungan Kandungan Total Flavonoid dalam Ekstrak

$$\begin{aligned} c &= 8,4191 \mu\text{g QE/ml} = 8,4191 \text{ mg QE/L} \\ V &= 2 \text{ ml} = 0,002 \text{ L} \\ m &= 4 \text{ mg} \\ C &= c \left(\frac{V}{m} \right) \\ C &= 8,4191 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{QE} \left(\frac{0,002 \text{ L}}{4 \text{ mg}} \right) \text{ekstrak} \\ C &= 0,3669483 \text{ mg QE/mg ekstrak} \\ C &= 366,9483 \text{ mg QE/g ekstrak} \end{aligned}$$

Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian



Gambar L.4. Pohon salam



Gambar L.5. Simplisia



Gambar L.6. Uji alkaloid



Gambar L.7. Uji fenol



Gambar L.8. Uji flavonoid



Gambar L.9. Uji tanin



Gambar L.10. Uji triterpenoid



Gambar L.11. Uji steroid



Gambar L.12. Uji saponin



Gambar L.13. Larutan DPPH



Gambar L.14. Pemudaran warna larutan DPPH oleh ekstrak



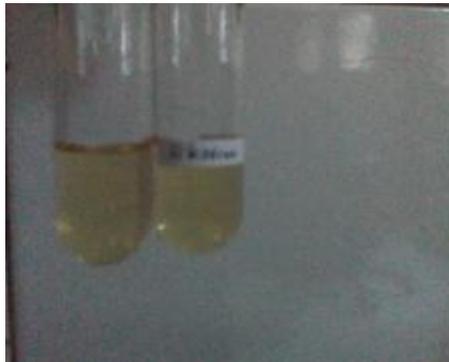
Gambar L.15. Pemudaran warna larutan DPPH oleh asam galat



Gambar L.16. Pemudaran warna larutan DPPH oleh kuersetin



Gambar L.17. Uji kandungan total fenolat



Gambar L.18. Uji kandungan total flavonoid

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Siti Nurjanah
2. Tempat/Tgl. Lahir : Grobogan, 21-12-1994
3. Alamat Rumah : Pulokulon, Grobogan
4. Email : sitinurjanahkimia@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. SDN 4 Pulokulon
 - b. MTs Al-Ishlah Pulokulon
 - c. MAN Purwodadi
2. Pendidikan Non-Formal
 - a. Pondok Pesantren Lita'limil Qu'ran
 - b. Ma'had Al-Jami'ah Walisongo

C. Karya Tulis Ilmiah

1. Penangkalan Radikal Bebas DPPH oleh Ekstrak Etanol Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*).
2. Fitokimia dan Bioaktivitas Dari Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*): Upaya Penelusuran Kandidat Obat Baru dari Keluarga *Myrtaceae*.