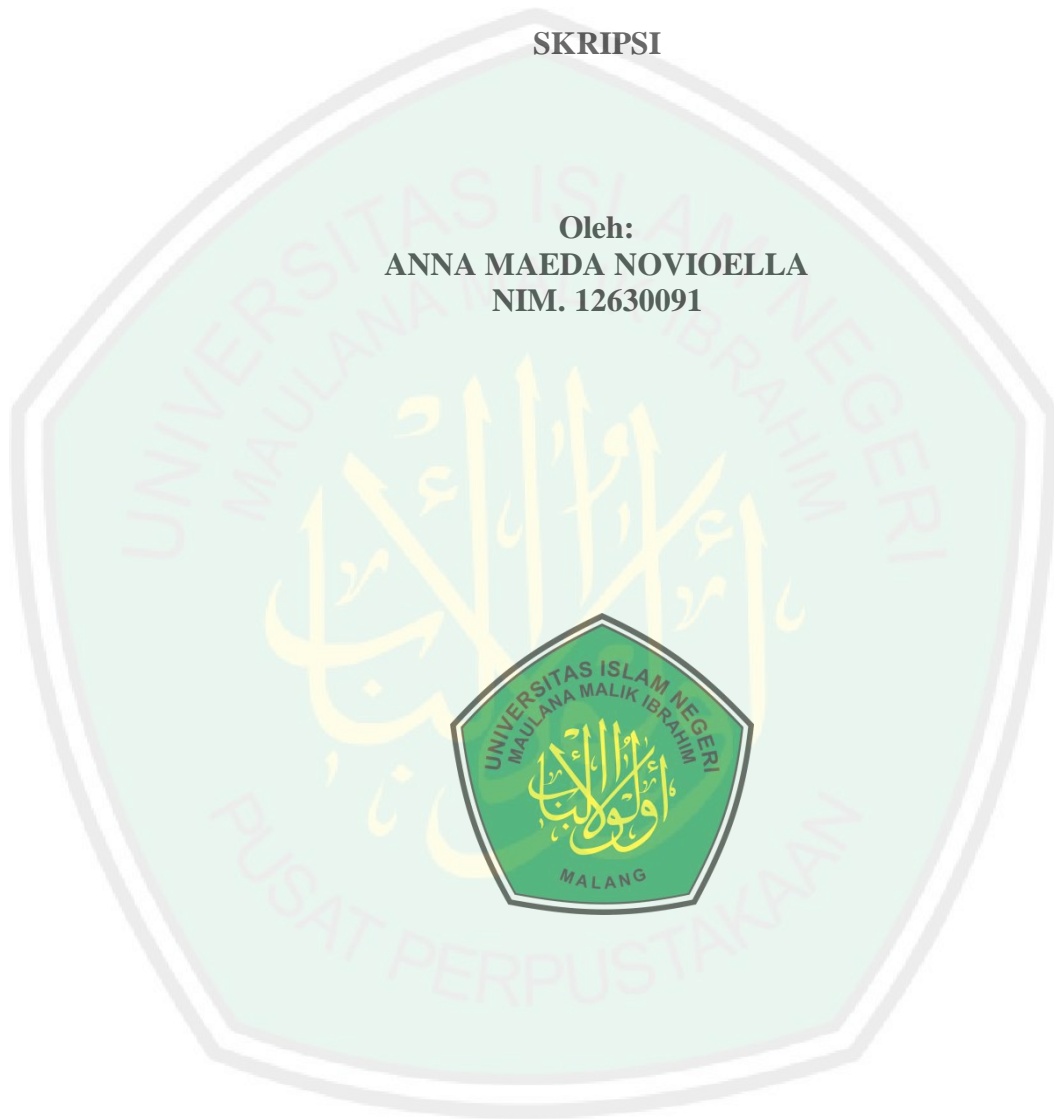


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
ETIL ASETAT KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

Oleh:
ANNA MAEDA NOVIOELLA
NIM. 12630091



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
ETIL ASETAT KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

Oleh:
ANNA MAEDA NOVIOELLA
NIM. 12630091

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL
ASETAT KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)**

SKRIPSI

Oleh:
ANNA MAEDA NOVIOELLA
NIM. 12630091

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 14 Juni 2019

Pembimbing I


Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**







Elok Khamillah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI ETIL
ASETAT KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)

SKRIPSI

Oleh:
ANNA MAEDA NOVIOELLA
NIM. 12630091

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 Juni 2019

| | | |
|--------------------|---|---|
| Penguji Utama | : A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002 | (..... ) |
| Ketua Penguji | : Anik Maunatin, S.T, M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248 | (..... ) |
| Sekretaris Penguji | : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009 | (..... ) |
| Anggota Penguji | : Susi Nurul Khalifah, M.Si NIP. 19851020 201903 2 012 | (..... ) |

Mengesahkan,
Ketua Jurusan



Elok Kantiyah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**LEMBAR PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anna Maeda Novioella

NIM : 12630091

Jurusan : Kimia

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil
Asetat Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pemikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 Juni 2019
Yang membuat pernyataan,




Anna Maeda Novioella
NIM. 12630091

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, karena dengan limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan semaksimal mungkin. Sholawat serta salam selalu tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Agung Muhammad SAW yang telah menuntun umatnya dari zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang yaitu agama Islam yang kita harapkan syafa'atnya di dunia dan di akhirat.

Skripsi dengan judul “**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)**”. Penyusunan skripsi yang akan dijadikan penelitian ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban jenjang S1 dalam tugas akhir berupa skripsi. Semoga kedepannya dapat terlaksana dengan sebaik-baiknya, serta dapat memberikan hasil yang maksimal sehingga dapat memberi manfaat kepada para pembaca.

Proses penyusunan skripsi ini penulis sampaikan banyak terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membimbing, membantu, dan melancarkan terselesaikannya skripsi ini, khususnya :

1. Bapak Prof. Dr. Abd. Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua Jurusan Kimia.
3. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Anik Maunatin, S.T, M.P, Susi Nurul Khalifah, M.Si dan bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan nasehat kepada penulis selama menyelesaikan skripsi ini.

4. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
5. Kedua orang tua Ayahanda Marhola dan ibunda Dwi Ainiy Mutabi'atun, serta saudara-saudaraku Rif'ah Rizki Ramadhani, Haedar Ihza Arifal Fahmi, A. Rizal Fahrezi dan Marcella Zahrie Putri yang telah memberi kasih sayang, nasihat, doa dan dukungan baik moral maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
6. Teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya kelas Kimia C yang telah memberi motivasi, informasi dan masukannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penulis.

Penulis sangat menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kesalahan serta kekurangan. Sebagai manusia yang tak pernah lepas dari kekhilafan maka penulis meminta maaf yang sebesar-besarnya apabila dalam penyusunan skripsi ini terdapat kesalahan. Untuk itu dengan segala kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun serta dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca. Aamiin.

Malang, 14 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| ABSTRAK | xii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 5 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 6 |
| 1.4 Batasan Masalah | 6 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 6 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Qur'an | 8 |
| 2.2 Apel Manalagi | 9 |
| 2.2.1 Taksonomi dan Morfologi Apel Manalagi | 9 |
| 2.2.2 Kandungan dan Manfaat Kulit Apel | 11 |
| 2.3 Senyawa Metabolit Sekunder | 12 |
| 2.3.1 Alkaloid | 12 |
| 2.3.2 Flavonoid | 12 |
| 2.3.3 Fenolik | 14 |
| 2.3.4 Tanin | 15 |
| 2.3.5 Saponin | 16 |
| 2.3.6 Steroid | 17 |
| 2.3.7 Triterpenoid | 18 |
| 2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif | 19 |
| 2.4.1 Ekstraksi Maserasi | 20 |
| 2.4.2 Hidrolisis Glikosida Ekstrak Etanol Kulit Apel | 22 |
| 2.4.3 Ekstraksi Cair-Cair | 23 |
| 2.5 Senyawa Radikal Bebas | 24 |
| 2.6 Antioksidan | 25 |
| 2.6.1 Klasifikasi Antioksidan | 25 |
| 2.6.2 Mekanisme Kerja Antioksidan | 27 |
| 2.7 Uji Aktivitas Antioksidan | 28 |
| 2.8 Spektrofotometer FTIR (Fourier Transform Infra Red) | 32 |
| | |
| BAB III METODOLOGI | |
| 3.1 Pelaksanaan Penelitian | 34 |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian | 34 |
| 3.2.1 Alat | 34 |
| 3.2.2 Bahan | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3 Rancangan Penelitian | 35 |
| 3.4 Tahapan Penelitian | 35 |
| 3.5 Cara Kerja..... | 36 |
| 3.5.1 Preparasi Sampel | 36 |
| 3.5.2 Analisis Kadar Air | 36 |
| 3.5.3 Ekstraksi Etanol Kulit Apel Menggunakan Pelarut Etanol | 37 |
| 3.5.4 Hidrolisis dan Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Apel | 37 |
| 3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan kstrak Etanol Kulit Apel Menggunakan Metode DPPH..... | 38 |
| 3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 38 |
| 3.5.5.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Sampel | 41 |
| 3.5.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Apel..... | 39 |
| 3.5.6.1 Uji Alkaloid | 39 |
| 3.5.6.2 Uji Flavonoid | 40 |
| 3.5.6.3 Uji Fenol..... | 40 |
| 3.5.6.4 Uji Tanin | 40 |
| 3.5.6.5 Uji Saponin..... | 41 |
| 3.5.6.6 Uji Steoid dan Triterpenoid | 41 |
| 3.5.7 Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Instrumen FTIR (Fourier Trasform Infra Red) | 41 |
| 3.5.8 Analis Data..... | 42 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Preparasi Sampel..... | 43 |
| 4.2 Analisis Kadar Air | 44 |
| 4.3 Ekstraksi Kulit Apel..... | 44 |
| 4.4 Hidrolisis dan Fraksinasi Ekstrak Pekat Etanol Kulit Apel | 46 |
| 4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Apel dengan Metode DPPH | 47 |
| 4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 47 |
| 4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan..... | 48 |
| 4.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Apel | 51 |
| 4.7 Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Instrumen FTIR (Fourier Trasform Infra Red) | 53 |
| 4.8 Pemanfaatan Kulit Apel Manalagi dalam Perspektif Agama Islam | 56 |
| BAB V PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan..... | 59 |
| 5.2 Saran..... | 59 |
| DAFTAR PUSTAKA | 60 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Buah apel manalagi..... | 10 |
| Gambar 2.2 Struktur Struktur senyawa alkaloid | 12 |
| Gambar 2.3 Struktur inti senyawa flavonoid..... | 13 |
| Gambar 2.4 Struktur fenol..... | 14 |
| Gambar 2.5 Beberapa struktur senyawa tanin..... | 16 |
| Gambar 2.6 Struktur inti senyawa saponin | 17 |
| Gambar 2.7 (a) Struktur inti senyawa steroid..... | 18 |
| (b) Struktur sitosterol..... | 18 |
| Gambar 2.8 Struktur isoprena..... | 19 |
| Gambar 2.9 Mekanisme reaksi hidrolisis ikatan glikosida | 23 |
| Gambar 2.10 Asam askorbat (Vitamin C)..... | 26 |
| Gambar 2.11 Butylated hydroxytoluene (BHT) | 26 |
| Gambar 2.12 Reaksi penetralan DPPH• menjadi DPPH-H | 28 |
| Gambar 2.13 Resonansi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)..... | 29 |
| Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM..... | 47 |
| Gambar 4.2 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas | 48 |
| Gambar 4.3 Glikosida flavonoid | 52 |
| Gambar 4.4 Reaksi persamaan radikal bebas DPPH oleh flavonoid | 53 |
| Gambar 4.5 Spektra FTIR fraksi etil asetat..... | 54 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut..... | 21 |
| Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan | 32 |
| Tabel 2.3 Serapan inframerah dari beberapa gugus fungsi | 33 |
| Tabel 4.1 Nilai EC ₅₀ pada sampel kulit apel Manalagi..... | 49 |
| Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak kulit apel | 51 |
| Tabel 4.2 Interpretasi spektra FTIR fraksi etil asetat..... | 55 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1 Rancangan Penelitian | 72 |
| Lampiran 2 Diagram Alir | 73 |
| Lampiran 3 Perhitungan Kadar Air | 78 |
| Lampiran 4 Perhitungan Rendemen | 80 |
| Lampiran 5 Pengujian Antioksidan | 81 |
| Lampiran 6 Spektra IR Fraksi Etil Asetat | 87 |
| Lampiran 7 Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan | 88 |
| Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian | 92 |



ABSTRAK

Novioella, A. M. 2019. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P; Pembimbing II: Susi Nurul Kholifah, M.Si; Konsultan: Anik Maunatin, S.T, M.P.

Kata Kunci: kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.), aktivitas antioksidan, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, FTIR

Kulit apel manalagi merupakan limbah dari hasil produksi kripik apel di wilayah Malang. Kulit apel mengandung senyawa aktif flavonoid dalam jumlah yang besar. Oleh karena itu, perlu dilakukan ekstraksi kulit apel manalagi menggunakan pelarut organik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel manalagi sebagai antioksidan.

Ekstraksi senyawa aktif kulit apel manalagi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96 %. Hasil ekstraksi dihidrolisis dengan HCl 2N dan difraksinasi menggunakan etil asetat. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan selanjutnya dialiri dengan gas N₂. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Identifikasi golongan senyawa menggunakan uji fitokimia dan FTIR.

Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada ekstrak etanol. Nilai EC₅₀ ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel manalagi sebesar 816,9 ppm dan 82,19 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel manalagi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid dan triterpenoid. Identifikasi dengan menggunakan FTIR menunjukkan bahwa hasil spektra fraksi etil asetat mengandung gugus fungsi OH (3446 cm⁻¹), C=C cincin aromatik (1540 cm⁻¹ dan 1458 cm⁻¹), C=O (1691 cm⁻¹), C-O (1044 cm⁻¹), =C-H siklik (669 cm⁻¹) dan daerah *overtone* (2000-1650 cm⁻¹).

ABSTRACT

Novioella, A. M. 2019. **The Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract and Ethyl Acetate of the Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris* Mill.)**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, University of Islamic State Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M. P; Supervisor II: Susi Nurul Kholifah, M.Si; Consultant: Anik Maunatin, S. T, M.P.

Keywords: Manalagi peel apple (*Malus sylvestris* Mill.), antioxidant activity, ethanol extract, ethyl acetate fraction, FTIR

Manalagi apple peel is the waste of the production of Apple chips in the area of Malang. Apple bark contains a large amount of active flavonoids compounds. Therefore, it is necessary to do the extraction of manalagi apple peel using organic solvents. The purpose of this research is to find out the potential of ethanol extract and manalagi apple ethyl acetate fraction as an antioxidant.

The extraction of active compounds of manalagi apple peel is done by the maceration method using ethanol 96 %. The extraction results are hydrolyzed by HCl 2N and fractionated using ethyl acetate. The ethanol extract and ethyl acetate fraction are separated from the banishment using a rotary evaporator and subsequently lined with N₂ gas. Test of antioxidant activity is carried out by the DPPH method (1.1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) with a variety of concentrations of 25, 50, 100, 200 and 400 ppm. Identify the compound class using the phytochemical test and FTIR.

The antioxidant activity test shows that the ethyl acetate fraction has antioxidant activity better than ethanol extracts. The value of EC₅₀ ethanol extract and the ethyl acetate of manalagi apple peel is 816.9 ppm and 82.19 ppm. The results of phytochemical tests show the ethanol extract and the ethyl acetal peel of the manalagi apple containing the alkaloid, flavonoid, phenol, tannin, steroid and triterpenoid compounds. Identification by using FTIR indicates that the results of an ethyl acetate fraction contains function group OH (3446 cm⁻¹), C=C aromatic rings (1540 cm⁻¹ and 1458 cm⁻¹), C=O (1691 cm⁻¹), C-O (1044 cm⁻¹), =C-H cyclical (669 cm⁻¹) and overtone areas (2000-1650 cm⁻¹).

المستخلص

نوفيوإلي، أ. م. ٢٠١٩. اختبار نشاطة مضاد أكسدة خلاة إيثنانول وجزء أسيتات الإيثيل من جلد التفاح منالاعي (*Malus sylvestris Mill.*) بحث جامعي، قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة 1: دكتورة أعين الجنة؛ المشرفة 2: نور الخليفة، الماجستير؛ المستشار: أنيك ماعونة، الماجستير

الكلمات الأساسية: جلد التفاح منالاعي (*Malus sylvestris Mill.*)، نشاطة مضاد أكسدة، خلاصة إيثنانول، جزء أسيتات الإيثيل، عالية الوضوح تحويل فورية الأشعة تحت الحمراء

كانت القشرة التفاحة مانالاجي قمامة من انتاجات الرقائق التفاحة في منطقة مالانج. تتضمن قرشة التفاحة المستحضر الناشط الفلافونويد في عدد كثير. لذلك في حاجة إلي استخلاصة قشرة التفاحة مانالاجي باستخدام مسيل عضوي. يهدف هذا البحث إلي معرفة احتمال المستخلصة الإيثنانول و فصيلة الإيثيل الخلات لقشرة مانالاجي كمصادة للأكسدة.

تقام استخلاصة المستحضر الناشط لقشرة التفاحة مانالاجي بالمنهج النقي باستخدام إيثنانول ٩٦ في المائة. تحلل نتيجة المستخلصة باستخدام $N_2 HCl$ ثم تفصل باستخدام الإيثيل الخلات. استخلاصة إيثنانول و فصيلة إيثيل الخلات تفرق من مسيلها باستخدام rotary evaporator يليها تسيل بالغاز N_2 اختبار الأنشطة المضادة للأكسدة باستخدام الطريقة DPPH (1.1-ديفينيل-2-فيكير الهيدازيل) بتنوع التركيز ٢٠٠، ١٠٠، ٥٠، ٢٥، ١٠ و ٤٠٠ ppm. تحقيق الفرق الناشط باختبار النباتية و FTIR.

اشار اختبار الأنشطة المضادة للأكسدة أن فصيلة إيثيل الخلات لديها أنشطة المضادة للأكسدة أحسن بالنسبة استخلاصة إيثنانول. نتيجة EC_{90} استخلاصة إيثنانول و فصيلة إيثيل الخلات قشرة التفاحة مانالاجي حوالي 816،9 ppm. نتيجة اختبار النباتية تحصل استخلاصة إيثنانول و فصيلة إيثيل الخلات قشرة التفاحة مانالاجي أنه تتضمن نشاط كحولي، فلافونويد، الفينولات، العفص، المنشطات وتريبتيرفينويد. تبرز تحقيق باستخدام FTIR. نتيجة طيف فصيلة إيثيل الخلات تحتوي على مجموعة وظيفية OH (٣٤٤٦ سم⁻¹)، $C=C$ حلقة عطرية (١٥٤٠ سم⁻¹) و ١٤٥٨ سم⁻¹، $C=O$ (١٦٩١ سم⁻¹)، $O-C$ (١٠٤٤ سم⁻¹)، CH دوري (٦٦٩ سم⁻¹) ومنطقة تجاوز (٢٠٠٠-١٦٥٠ سم⁻¹).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) merupakan salah satu jenis apel yang mudah ditemui di daerah Malang. Apel Manalagi lebih diminati masyarakat karena rasanya manis, mudah didapat dan harganya ekonomis (Hapsari & Estiasih, 2015). Apel Manalagi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku makanan olahan, salah satunya adalah kripik apel. Proses pengolahan kripik apel menghasilkan limbah berupa kulit apel (Surjowardojo *et al.*, 2016). Kulit apel merupakan buangan dari proses pengolahan apel. Jumlah limbah kulit apel yang dihasilkan dari pengolahan keripik apel adalah sebesar 42,308 % dari keseluruhan jumlah total apel (Surjowardojo *et al.*, 2016). Salah satu industri yang bergerak dalam bidang pengolahan sayuran dan buah menghasilkan limbah berupa kulit dan bonggol apel sebesar 2 ton per hari. Kulit apel tersebut kemudian dibuang atau diambil oleh peternak disekitar untuk makanan ternak (Hidayat *et al.*, 2009).

Allah berfirman dalam al-Qur'an surat Ali Imran (3) ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya:

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) Orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”*”(QS. Ali Imran :190-191).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan segala yang ada di bumi dan langit tidaklah ada yang sia-sia. Allah memerintahkan kepada orang-orang yang berakal untuk menggunakan pikirannya agar dapat mengambil manfaat dari apa yang diciptakan oleh Allah. Oleh karena itu, manusia harus dapat memanfaatkan kekayaan alam yang Allah SWT berikan dengan sebaik-baiknya. Salah satunya adalah memanfaatkan limbah kulit apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) sebagai antioksidan. Menurut Shihab (2003), kata *ulul albab* dalam ayat tersebut berarti orang-orang yang berakal, yaitu orang-orang yang menggunakan pikirannya untuk mengambil manfaat dari apa-apa yang diciptakan oleh Allah SWT, berpikir tajam, mendalami pemahamannya, serta senantiasa mengingat Allah SWT dalam setiap keadaan karena Allah SWT tidak menciptakan sesuatu secara sia-sia.

Bioaktivitas suatu bahan alam dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang berada di dalamnya. Kulit apel mengandung total flavonoid yang lebih banyak dibandingkan daging buah apel (D'Abrosca, B. *et al.*, 2007). Kulit apel mengandung senyawa-senyawa flavonoid seperti katekin, *procyanidin*, *phloridzin*, glikosida phloretin, asam kafeat, asam klorogenat, glikosida kuersetin dan glikosida sianidin (Liu & Wolfe, 2003). Penelitian D'Abrosca *et al.*, (2007) melaporkan bahwa kulit apel Limoncella mengandung total flavonoid yang lebih banyak dibandingkan daging buah apel, dimana flavonoid kulit apel sebesar 47,8 mg/100 g QE BB dan pada dagingnya hanya sebesar 16,0 mg QE/ 100 g BB. Andriani & Palupi (2016) telah melakukan penelitian total flavonoid kulit apel pada apel varietas Manalagi, Anna dan *Rome Beauty* hasilnya menunjukkan total flavonoid kulit apel Manalagi lebih tinggi dibanding kulit apel Anna dan *Rome*

Beauty yaitu sebesar 0,400 mg/g QE BB; 0,126 mg/g QE BB dan 0,119 mg/g QE BB.

Penelitian Simanjuntak *et al.*, (2016) menunjukkan aktivitas antioksidan apel Manalagi memiliki kadar tinggi dibandingkan varietas apel Anna, dimana 6,53 % untuk apel Manalagi dan 5,50 % untuk apel Anna. Hasil penelitian Leontowicz *et al.*, (2003) menunjukkan aktivitas antioksidan kulit buah apel 87,9 % lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan daging buahnya 69,1 %. Antioksidan merupakan salah satu substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Iswara, 2009). Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis seperti butylated hydroxytoluene (BHT) banyak digunakan di industri makanan. Namun, uji hewan coba telah menunjukkan bahwa BHT terakumulasi dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan hati dan karsinogenesis (Jiangning *et al.*, 2005). Hal tersebut menyebabkan penelitian dan penggunaan antioksidan alami meningkat karena lebih efektif dan tidak beracun. Antioksidan alami seperti asam askorbat, senyawa fenol dan flavonoid menjadi alternatif pemenuhan antioksidan yang aman (Nunes *et al.*, 2012).

Ekstraksi senyawa aktif kulit apel dengan pelarut etanol 96 % menggunakan metode maserasi. Metode maserasi menggunakan teori *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang

bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Khopkar, 2003). Berdasarkan penelitian Khoiroh, (2017) senyawa aktif yang mampu terekstrak dari kulit apel dengan pelarut metanol diantaranya flavonoid, terpenoid, polifenol, tanin, dan saponin, serta senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antioksidan. Pelarut metanol diduga efektif dalam mengekstrak senyawa aktif dari kulit apel, akan tetapi pelarut metanol memiliki sifat toksik. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan etanol sebagai pelarut pengganti metanol. Ekstrak etanol 96 % yang didapatkan selanjutnya dihidrolisis menggunakan HCl 2 N (Tensiska dkk., 2007) untuk mendestruksi ikatan glikosida (Bimakra dkk., 2010).

Penelitian Leontowicz *et al.*, (2003) dan Massini *et al.*, (2013) menyebutkan pelarut etanol dapat mengekstrak senyawa aktif flavonoid, asam fenolik dan polifenol yang terdapat di dalam kulit apel. Pertiwi *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit apel (*Malus domestica* Borkh.) memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 87.795 ppm. Namun, penelitian tersebut masih terbatas pada tingkat ekstrak, sehingga dalam penelitian ini dilakukan pemisahan lebih lanjut atau fraksinasi untuk mengetahui aktivitas antioksidan.

Ekstrak yang didapatkan akan dilakukan ekstraksi lagi dengan metode fraksinasi. Tujuan fraksinasi untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Darwis, 2000). Fraksinasi kulit apel dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat dipilih karena kemampuannya paling baik dalam melarutkan aglikon yang kurang polar dan aglikon termetoksilasi yang banyak ditemukan di bagian permukaan luar buah dibandingkan dengan pelarut non-polar lain (Nollet, 2000). Penelitian

Rahmawan & Dwiatmaka (2013) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah apel beludru memiliki potensi sebagai antioksidan. Agustin *et al.*, (2017), menyatakan fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit batang jarak memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibanding pelarut fraksi n-heksan dan fraksi etanol dengan nilai IC_{50} 24,38 ppm.

Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Kelebihan menggunakan metode DPPH adalah metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah kecil. Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi (Rahim, 2012). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah *Effective Concentration* (EC_{50}). Carodina (2000) telah menggunakan metode DPPH dalam menentukan aktivitas antioksidan sari buah apel varietas Manalagi dan Anna. Penelitian Leontowicz *et al.*, (2003) juga menggunakan DPPH untuk menentukan komponen antioksidan dalam kulit apel.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi dengan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi berdasarkan nilai EC_{50} ?

2. Golongan senyawa apa yang terkandung pada ekstrak kulit apel Manalagi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan uji fitokimia dan FTIR?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi berdasarkan nilai EC_{50}
2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak kulit apel Manalagi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan uji fitokimia dan FTIR

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Kulit apel Manalagi yang digunakan adalah kulit apel yang di peroleh dari home industri pembuatan kripik apel yang berada di daerah Batu.
2. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi dengan pelarut etanol dan fraksinasi dengan pelarut etil asetat.
3. Uji aktivitas antioksidan pada konsentrasi adalah, 25, 50, 100, 200 dan 400.
4. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dengan pembanding asam askorbat dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
5. Identifikasi golongan senyawa antioksidan menggunakan instrumen FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi bahwa kulit apel Maanalagi dapat dimanfaatkan untuk pemeliharaan kesehatan dari radikal beba

2. Memberikan informasi sebagai salah satu referensi dan perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Qur'an

Allah menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini sebagai tanda-tanda kekuasaan-Nya. Ia ciptakan berbagai macam jenis tumbuhan untuk memberikan manfaat bagi manusia. Hal ini dijelaskan dalam al-Qur'an surat asy Syu'ara (26) ayat 7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً ط وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman” (QS. asy Syu'ara: 7-8).

Menurut Al-Qurthubi (2009), tafsir asy Syu'ara: 7-8, Allah menciptakan segala sesuatu di bumi ini memiliki banyak manfaat, seperti halnya tumbuh-tumbuhan yang baik dan memiliki banyak manfaat. QS. asy Syu'ara ayat 7-8 memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, jika mereka melihat dengan hati dan mata mereka niscaya mereka mengetahui bahwa Allah adalah yang berhak disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu. *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan”* maksudnya tidak memikirkan tentang (bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya (dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya (Al-Mahalli, 2008). Shihab (2003), menyatakan bahwa yang dimaksud dengan *zauj karim* pada ayat 7 surat asy Syu'ara adalah tumbuhan yang baik, yaitu tumbuhan yang subur dan

bermanfaat. Salah satu tumbuhan yang termasuk dalam ayat tersebut adalah apel. Selain daging buahnya yang kaya akan metabolit sekunder, kulit apel juga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Pemanfaatan kulit apel merupakan salah satu upaya untuk mengurangi jumlah limbah kulit apel yang akan berdampak pada kelestarian lingkungan apabila membiarkan limbah menumpuk begitu saja.

2.2 Apel Manalagi

2.2.1 Taksonomi dan Morfologi Apel Manalagi

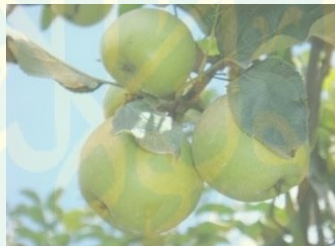
Apel merupakan tanaman buah yang dapat tumbuh subur di daerah yang mempunyai iklim subtropis. Apel di Indonesia dikembangkan di beberapa wilayah yang memiliki ketinggian sekitar 700-1200 meter di atas permukaan laut dan apel lokal yang terkenal dari daerah Malang, Jawa Timur. Kedudukan tanaman apel dalam sistematika (taksonomi) tanaman diklasifikasikan sebagai berikut (Yulianti dan Sitanggang, 2006):

| | |
|-----------|---------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Subdivisi | : Angiosperma |
| Kelas | : Dicotyledone |
| Ordo | : Rosales |
| Famili | : Rosaceae |
| Genus | : Malus |
| Species | : <i>Malus sylvestris</i> Mill. |

Tanaman apel merupakan tanaman semak keluarga mawar-mawaran yang memiliki akar tunggang dan umumnya memiliki tinggi 2-4 meter hingga 10 meter (Kusumo & Verheij, 1997). Tanaman apel berdaun tunggal, berbulu kasar, dan tersebar melingkar di sepanjang cabang. Bentuk daun lonjong dengan ujung meruncing dan warnanya hijau muda (Sunarjono, 2005). Pohon tanaman apel berkayu keras dan kuat, kulit kayunya cukup tebal, warna kulit batang cokelat

muda sampai coklat kekuning-kuningan dan setelah tua berwarna hijau kekuning-kuningan sampai kuning keabu-abuan (Soelarso, 1997).

Bunga apel mempunyai putik, benang sari, mahkota, dan kelopak (Untung, 1994). Bunga berbentuk tunggal atau berkelompok dengan penyerbukan silang (Sunarjono, 2005). Bunga apel berkelompok dalam satu tunas terdapat 3-7 kuntum bunga (Mansyur, 2008). Bunga apel bertangkai pendek, menghadap ke atas, dan bertandan. Bunga tumbuh pada ketiak daun dan mahkota bunga berwarna putih sampai merah jambu berjumlah 5 helai (Soelarso, 1997). Pada semua varietas, jumlah tangkai benangsari dan tangkai putik adalah sama yaitu antara 15-20 dan 5, panjang tangkai benangsari dan panjang tangkai putik bervariasi antara 0.5-1.2 cm, sedangkan panjang tangkai bunga antara 1.0-4.0 cm (Sugiyatno dan Yuflosponto, 2007).



Gambar 2.1 Buah apel Manalagi (Yulianti dan Sitanggang, 2006)

Buah apel Manalagi berbentuk bulat dengan ujung dan pangkal berlekuk dangkal, diameter 4-7 cm dan berat 75-160 gram/buah. Kulit apel Manalagi berwarna hijau muda kekuningan, tebal dengan pori-pori buah kasar dan renggang. Rasanya manis dan tidak asam walaupun belum matang. Daging buah berwarna putih kekuningan, padat, renyah, bertekstur halus, dan beraroma kuat dengan rasamanis. Bentuk bijinya bulat pendek dan berwarna coklat tua. Produksi

buah rata-rata tiap pohon sekitar 75 kg setiap musim (Yulianti dan Sitanggang, 2006).

2.2.2 Kandungan dan Manfaat Kulit Apel

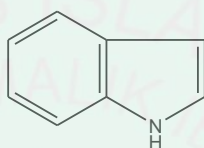
Kulit apel mengandung vitamin C, katekin, prosianidin, floridzin, floretin glikosida, asam kafeat, asam klorogenat, dan kuersetin glikosida (Mullen et al., 2007, Wolfe et al., 2003). Khoiroh (2017), dalam penelitiannya menyatakan bahwa terdapat kandungan senyawa aktif flavonoid, terpenoid, polifenol, tanin, dan saponin dari apel Manalagi yang diekstraksi menggunakan metanol. Kulit apel juga mengandung senyawa fenolik yang lebih besar dari daging buah apel. Penelitian Wolfe et al. (2003) terhadap empat jenis apel yaitu apel *Rome Beauty*, *Idared*, *Cortland*, dan *Golden Delicious* menunjukkan kandungan total fenolik dan flavonoid paling banyak terdapat dalam kulit apel, kemudian daging dan kulit, diikuti oleh daging. Golding et al., (2001), mengklasifikasikan fenolik dalam kulit apel sebagai berikut: asam fenolat/asam klorogenat, flavonoid yaitu flavan (katekin), prosianidin, flavonol (kuersetin glikosida), kalkon (floretin glikosida), dan antosianin (cianidin glikosida). Beberapa kandungan senyawa aktif kulit apel juga telah dilakukan isolasi dan diidentifikasi adalah flavonoid (Xu et al., 2017), triterpenoid (He & Liu 2007), dan asam ursolat (Yamaguchi et al., 2008).

Pertiwi et al., (2016) telah menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol limbah kulit buah apel, hasilnya berdasarkan nilai *Inhibition Concentration 50 %* (IC₅₀) ekstrak etanol limbah kulit buah apel memiliki klasifikasi aktivitas antioksidan yang kuat terhadap radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil*).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

2.3.1 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).



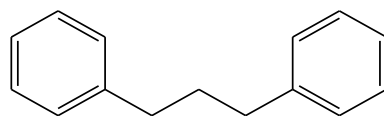
Gambar 2.2 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Hasil positif alkaloid pada reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah dengan kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah-merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida ditambahkan secara berlebih maka akan berbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990).

2.3.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid mempunyai struktur $C_6-C_3-C_6$, tiap bagian C_6 merupakan cincin benzen yang terdistribusi dan dihubungkan oleh atom C_3 yang merupakan rantai alifatik. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak (Markham, 1988). Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksilnya. Salah

satu kelompok senyawa flavonoid adalah quersetin yang memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH (Rahayu *et al.*, 2009).



Gambar 2.3 Struktur inti senyawa flavonoid (Robinson, 1995)

Flavonoid pada tumbuhan tingkat tinggi terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono, di atau triglikosida (Achmad, 1986). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol ataupun air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

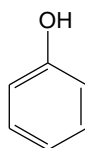
Septyaningsih (2010) menjelaskan bahwa jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Mariana *et al.*, 2013).

Sejumlah senyawa flavonoid mempunyai rasa yang pahit sehingga dapat menolak sejenis ulat tertentu (Sastrohamidjojo, 1996). Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron atau sebuah atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi. Oleh karena itu, flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Kandaswami & Middleton, 1997).

Penelitian Kyung-hae *et al.* (2018), menyatakan ekstrak etanol 70 % kulit apel mengandung senyawa flavonoid dan lebih banyak 3-8 kali dari daging buah apel. D'Abrosca *et al.* (2007) telah melakukan penentuan total flavonoid dalam kulit buah apel (*Malus domestica* cv 'Limoncella'), hasilnya flavonoid dalam kulit adalah 47,8 mg setara kuersetin (QE) dalam 100 g bahan segar.

2.3.3 Fenolik

Istilah senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya senyawa tersebut sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida (Harborne, 1987). Fenol bersifat toksik dan korosif terhadap kulit dan pada konsentrasi tertentu dapat menyebabkan gangguan kesehatan manusia hingga kematian pada organisme tergantung dari jumlah atom atau molekul yang melekat pada rantai benzenanya (Qadeer and Rehan, 1998).



Gambar 2.4 Struktur fenol (Vermerris & Nicholson, 2006)

Fenol adalah zat kristal yang tidak berwarna dan memiliki bau yang khas. Senyawa fenol dapat mengalami oksidasi sehingga dapat berperan sebagai reduktor (Hoffman *et al.*,1995). Fenol bersifat lebih asam bila dibandingkan dengan alkohol, tetapi lebih basa daripada asam karbonat karena fenol dapat melepaskan ion H^+ dari gugus hidroksilnya. Lepasnya ion H^+ menjadikan anion fenoksida $C_6H_5O^-$ dapat melarut dalam air (Fessenden dan Fessenden, 1997). Kemampuan dalam membentuk radikal fenoksi yang stabil dalam proses oksidasi menyebabkan senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan.

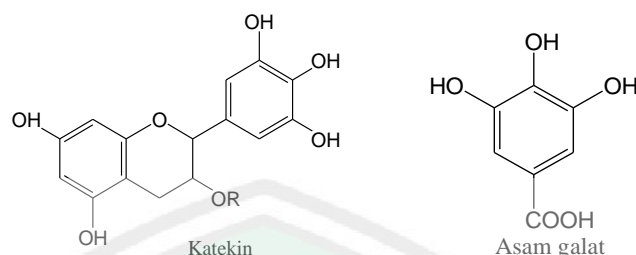
Katiyo *et al.* (2018) telah melakukan pengujian aktivitas senyawa fenol apel Cina berdaging merah (Malus pumila Niedzwetzkyana (Dieck), hasilnya menunjukkan bahwasenyawa fenol dari kulit apel Cina berdaging merah memiliki aktivitas antioksidan sebesar 2966,28 mg/kg.

2.3.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, bersifat fenol dan memiliki rasa sepat. Tanin dibagi menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson, 1995). Tanin terkondensasi banyak terdapat pada tumbuhan berkayu, namun dapat juga ditemukan pada paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae. Tanin terhidrolisis banyak ditemukan pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1987).

Tanin apabila direaksikan dengan $FeCl_3$ akan membentuk warna hijau. Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan

kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007).



Gambar 2.5 Beberapa struktur senyawa tanin (Parker, 1995)

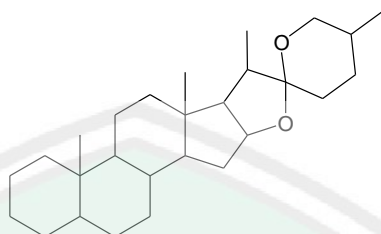
Penelitian Lees *et al.* (1995) menunjukkan bahwa kulit apel Red Delicious mengandung senyawa tanin terkondensasi sebesar 42,9 mg/g. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Figueroa-Espinoza *et al.* (2015) menyatakan bahwa senyawa tanin golongan (-)-epicatechin memiliki aktivitas antioksidan yang dapat berfungsi sebagai pengemulsi. Kemudian hasil penelitian Rehab *et al.* (2018) juga menunjukkan pada ekstrak air kulit apel positif mengandung senyawa aktif tanin.

2.3.5 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin “*sapo*” yang berarti sabun, dinamakan demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin larut dalam air dan alkohol, tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada lendir (Robinson, 1995).

Saponin diklasifikasikan menjadi dua, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul karbohidrat sedangkan saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat (Purwono & Hartono, 2008). (Oesman, Murniana,

Khairunnas, & Saidi, 2010) menyatakan bahwa saponin adalah senyawa polar yang keberadaannya dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut semipolar dan polar.

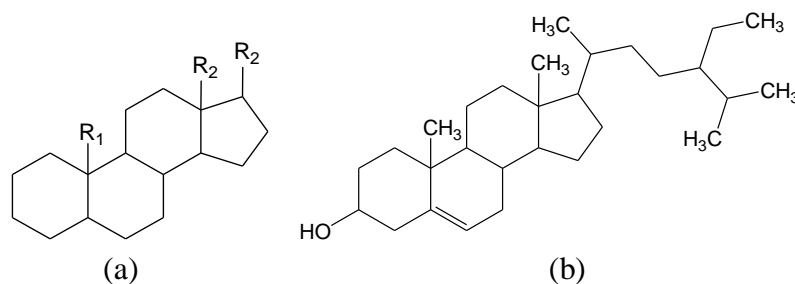


Gambar 2.6 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Uji saponin positif bila ditambahkan dengan aquades panas akan terbentuk busa/buih selama 15 menit. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, 2005). Doss & Pugalenth (2012), menunjukkan ekstrak metanol apel positif mengandung senyawa saponin.

2.3.6 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut. Beberapa turunan steroid yang penting yaitu steroid alkohol atau sterol (Poedjiadi, 1994). Sterol yang terdapat dalam tumbuhan (fitosterol) hampir ada dalam setiap tumbuhan tinggi yaitu: sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne, 1987). Beberapa steroid lain yaitu asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Poedjiadi, 1994).



Gambar 2.7 (a) Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi, 1994) (b) Struktur sitosterol (Harborne, 1987)

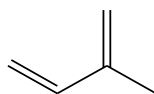
Steroid bisa terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne, 1987). Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gula dan aglikon. Adanya gula yang terikat dan bersifat polar mengakibatkan glikosida mampu larut dalam pelarut polar. Namun sebaliknya, aglikon berupa steroid yang bersifat nonpolar menyebabkan steroid lebih larut pada pelarut nonpolar (Purwatresna, 2012).

Hasil positif adanya senyawa steroid dengan adanya warna hijau biru setelah ditambahkan pereaksi atau reagen Lieberman–Buchard (Robinson, 1995). Singh & Kumari (2019) menyatakan bahwa ekstrak metanol buah apel positif mengandung senyawa steroid yang memiliki aktivitas antioksidan.

2.3.7 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dandapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa tersebut mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehid atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak berwarna, kristalin, sering mempunyai titik lebur tinggi. Senyawa

triterpenoid banyak terdapat dalam lapisan dalam daun dan buah, juga terdapat dalam dammar, kulit batang dan getah. (Harborne, 1987).



Gambar 2.8 Struktur isoprena (Sastrohamidjojo, 1996)

Triterpenoid biasanya terdapat dalam daun dan buah, seperti apel dan pir, yang berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba. Triterpenoid juga terdapat dalam damar, kulit batang dan getah. Triterpenoid tertentu dikenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Senyawa triterpenoid/steroid dapat mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995).

Hasil positif adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua pada isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard (Bawa, 2009). He & Liu (2007) telah mengisolasi dan identifikasi 13 senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat kulit apel memiliki aktivitas antikanker dan anti proliferasi yang kuat.

2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi merupakan suatu proses pengambilan komponen zat aktif yang diinginkan dari suatu bahan dengan cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber komponennya (Ahmad, 2006). Ekstraksi biasanya banyak dilakukan dalam bidang farmasi untuk memisahkan senyawa aktif yang bermanfaat sebagai obat. Metode ekstraksi berguna untuk memisahkan bagian yang mempunyai sifat aktif dalam jaringan tanaman dan mengeliminasi bagian yang inert (Handa *et al.*, 2008).

2.4.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi yaitu proses pemisahan zat aktif dari suatu zat dengan penambahan pelarut organik yang dilakukan pada suhu ruang tanpa adanya pemanasan (Darwis, 2000). Metode maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut organik sehingga terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang paling pekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Voight, 1994).

Kelebihan metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu yang cukup lama dan menggunakan jumlah pelarut yang banyak (Voight, 1994).

Faktor-faktor yang harus diperhatikan saat pemilihan pelarut yang akan digunakan untuk ekstraksi maserasi adalah pelarut harus murah dan mudah didapatkan, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat aktif (Ahmad, 2006). Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang terbaik untuk bahan yang diekstraksi dan pelarut tersebut dapat terpisah dengan cepat setelah pengocokan (Winarno *et al.*, 1973). Selain itu, zat aktif tersebut dapat tertarik mudah larut pada pelarut yang relatif sama tingkat kepolarannya. Kepolaran suatu pelarut ditentukan oleh besar konstanta dielektriknya, yaitu semakin besar nilai konstanta

dielektrik suatu pelarut maka polaritasnya semakin besar. Konstanta dielektrik beberapa pelarut organik ditunjukkan Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut(Sax & Lewis, 1998; Fesenden dan Fesenden, 1997; dan Mulyono, 2006)

| Jenis pelarut | Konstanta dielektrik | Tingkat kelarutan dalam air | Titik didih (°C) |
|---------------|----------------------|-----------------------------|------------------|
| Etil asetat | 6,02 | S | 77,1 |
| Etanol | 24,30 | L | 78,5 |
| Metanol | 33,60 | L | 64 |
| Air | 78,4 | L | 100 |

Keterangan: S=sedikit; L=larut dalam berbagai proporsi

Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif dalam kulit apel (*Malus sylvestris* Mill.) adalah etanol 70 %. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat karena sifat kepolarannya yang tinggi, memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert dan memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006).

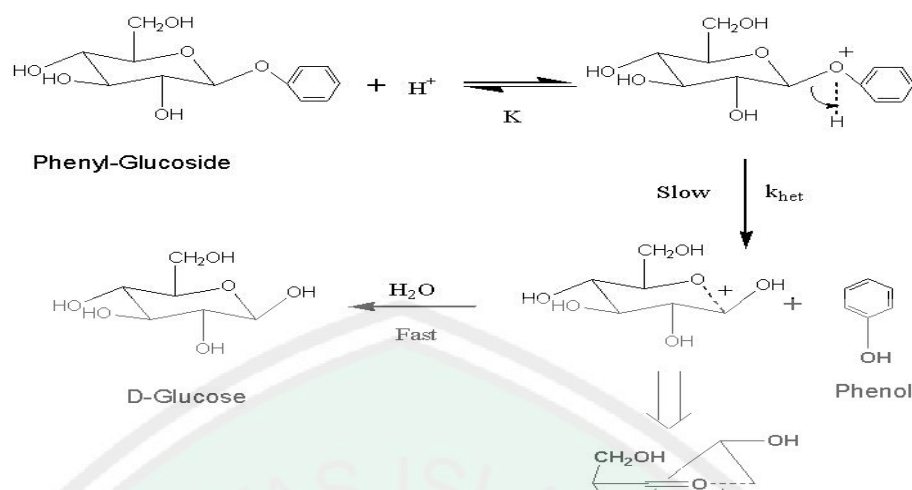
Hegazy (2017) telah mengekstrak kulit apel menggunakan pelarut etanol, metanol, aseton, etil asetat, diklorometana, heksana, hasilnya menunjukkan ekstrak etanol kulit apel memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (% aktivitas pemulung DPPH) yaitu 78.14 %. Kim *et al.* (2014) mengekstrak kulit apel menggunakan pelarut etanol 70 % dan diperoleh aktivitas antioksidan kulit apel sebesar 12.28 μ M ekuivalen asam askorbat/g. Penelitian sebelumnya telah dilakukan ekstraksi maserasi serbuk kulit apel dengan pelarut etanol, didapatkan nilai rendemen yang dihasilkan untuk pelarut etanol sebesar 23,6 % (JAnnata *et al.*, 2014). Hasil penelitian yang dilakukan Pertiwi *et al.* (2016) menunjukkan rendemen yang dihasilkan ekstrak etanol 70 % sebesar 30,74 %.

2.4.2 Hidrolisis Glikosida Ekstrak Etanol Kulit Apel

Hidrolisis merupakan proses dekomposisi kimia dengan menggunakan pelarut untuk memecahkan ikatan kimia dari substansinya. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin, dkk., 2006). Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar maupun non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004).

Apabila suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosidanya maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Sehingga pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut-pelarut polar. Sebagian besar senyawa flavonoid merupakan struktur glikosida yaitu unit flavonoid yang terikat dengan gula tetapi ada juga yang ditemukan dalam bentuk aglikon (bebas gula). Jika flavonoid tersebut termasuk senyawa glikosida, maka perlu dihidrolisis karena gula dapat mengganggu dalam pengujian aktivitas antioksidan (Markham 1988).

Reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (seperti asam). Katalisator asam yang sering digunakan dalam industri adalah asam klorida (HCl) karena garam yang terbentuk tidak berbahaya (NaCl). Mekanisme reaksi hidrolisis ikatan glikosida adalah sebagai berikut :



Gambar 2.9 Mekanisme reaksi hidrolisis ikatan glikosida (Lawoko and Deshpande 2009)

2.4.3 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008). Kelebihan dari metode partisi adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktunya ujinya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Dewi *et al.*, 2010).

Proses partisi pada penelitian ini dilakukan menggunakan pelarut etil asetat yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda dengan etanol sehingga dapat memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya sehingga memungkinkan mendapatkan senyawamurni. Penelitian Septiani *et al.* (2018), ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun jambang (*Syzygium Cumini* L. Skeels) memiliki aktivitas

antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} rata-rata sebesar 13,46 $\mu\text{g/mL}$ dan 5,31 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian Yuliani *et al.* (2016), menunjukkan nilai IC_{50} dari fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah adalah 41, 27 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, karena $IC_{50} < 50$ ppm.

2.5 Senyawa Radikal Bebas

Menurut Soematmaji (1998), yang dimaksud radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya.

Keseimbangan antara kandungan antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan tubuh. Apabila jumlah radikal bebas terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka kelebihan radikal bebas tidak dapat dinetralkan. Akibatnya radikal bebas akan bereaksi dengan komponen-komponen sel dan menimbulkan kerusakan sel (Arnelia, 2002). Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK) dan diabetes mellitus.

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas

eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV. Di samping itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktifitas lingkungan. Menurut Supari (1996), aktifitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan pestisida.

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

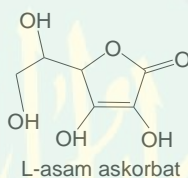
Penggunaan senyawa antioksidan juga anti-radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas (Tahir *et al.*, 2003).

2.6.1 Klasifikasi Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

1. Antioksidan Alami

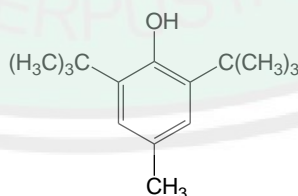
Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi *et al.*, 1996). Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan penting yang larut dalam air. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi membran biologis dan LDL (*Low Density Lipid*) dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol (Silalahi, 2006).



Gambar 2.10 Asam askorbat (Vitamin C)

2. Antioksidan Sintetik

Contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan yaitu BHT, PG, TBHQ dan tokoferol. Adapun struktur molekul dari BHT dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.11 *Butylated hydroxytoluene* (BHT) (Cahyadi, 2006)

Antioksidan sintetik BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Oleh karena itu, penelitian dan

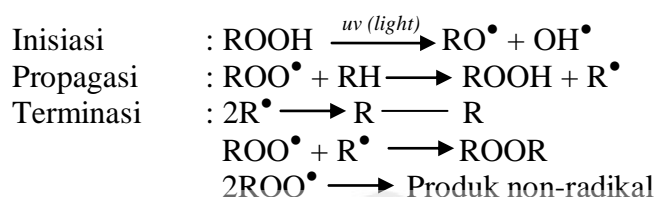
pengembangan antioksidan yang berasal dari alam kini sedang giat-giatnya dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetik (Shahidi *et al.*, 1995).

2.6.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

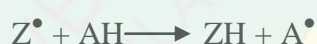
Menurut Gordon (1990), antioksidan mempunyai dua fungsi berdasarkan mekanisme kerjanya. Pertama, fungsi utama antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang memiliki fungsi tersebut disebut juga sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid (R^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara hasil reaksi radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding dengan radikal lipid. Fungsi kedua, antioksidan merupakan antioksidan sekunder, yaitu berfungsi untuk memperlambat laju auto oksidasi dengan berbagai mekanisme pemutusan rantai oksidasi di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi, dimana hal itu melalui perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi auto oksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi.

Terbentuknya senyawa radikal, baik radikal bebas endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan reaksi. Mula-mula terjadi pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir yaitu pemusnahan atau perubahan senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi).

Deretan reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas dapat berlangsung seperti berikut (Mark, 2013):

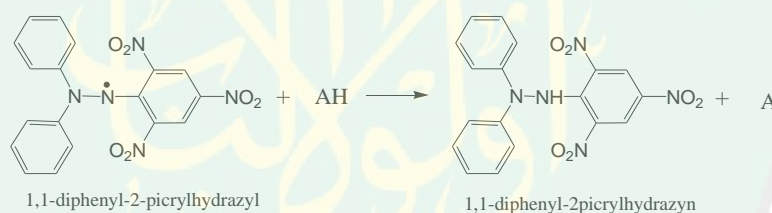


Antioksidan berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non radikal. Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan ini dapat berlangsung sebagai berikut (Rohmatussolihat, 2009).



Keterangan :

Z^\bullet = radikal bebas, AH = antioksidan, ZH = non radikal, A^\bullet = radikal baru bersifat lebih stabil



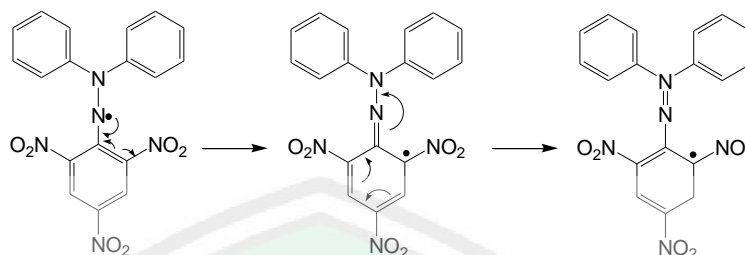
Gambar 2.12 Reaksi penetralan DPPH^\bullet menjadi DPPH-H

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Beberapa metode uji aktivitas antioksidan secara *in-vitro* diantaranya metode DPPH, aktivitas peredaman radikal superoksida, aktivitas penghambat radikal hidroksil, metode kekuatan pereduksi, metode ABTS, kapasitas serapan radikal oksigen, metode FRAP, lipid peroksidasi mikrosomal atau uji asam tobarbiturat (Febriany, 2012).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau

ekstrak bahan alam (Molyneux, 2004). Resonansi DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.12.



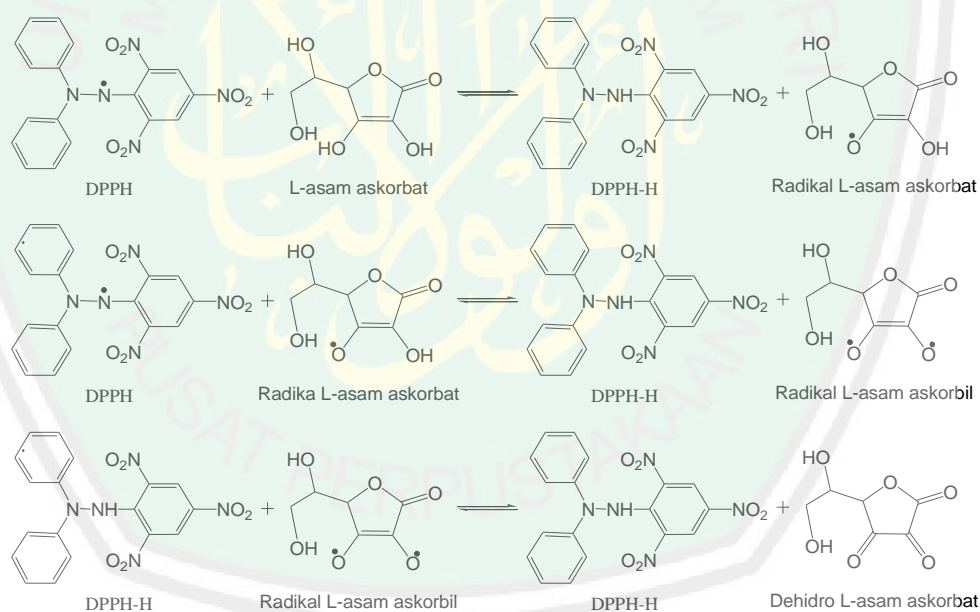
Gambar 2.13 Resonansi DPPH (1,1,-difenil-2-pikrilhidrazil) (Manik, 2011)

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Asih *et al.*, 2012). Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak (non polar) atau pun dalam air (polar) (Prakash *et al.*, 2001). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Dengan kata lain, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan

pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash *et al.*, 2001).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan (Prakash *et al.*, 2001). Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Semakin pudar warna dan semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan bahwa semakin banyak radikal bebas yang bereaksi dengan antioksidan yang terdapat dalam serum (Damayanthi, 2010). Reaksi antara asam askorbat dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar

2.14.



Gambar 2.14 Reaksi asam askorbat dengan DPPH (Nishizawa, 2005 dalam Arindah, 2010)

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, *reliable* dan praktis (Prakash *et al.*, 2001). Penelitian Maesaroh *et*

al. (2018) telah melakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin, hasilnya diperoleh bahwa metode uji aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH ditemukan paling efektif dan efisien diantara ketiga metode uji yang digunakan dengan nilai IC_{50} berturut-turut 1,27; 2,44; dan 2,77 mg/L untuk asam galat, kuersetin dan asam askorbat.

Efektivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan 2.1 (Molyneux, 2003).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \% \dots \dots \dots (2.1)$$

Nilai 0 % menunjukkan sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata *et al.*, 2009). Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan efektivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003).

Metode DPPH menggunakan parameter EC_{50} . Parameter EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap

radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman *et al.*, 2005). Menurut Armala (2009) dalam Putra (2012), menyatakan tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai EC_{50} , seperti yang nampak pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antioksidan (Putra, (2012))

| Intensitas | Nilai EC_{50} |
|-------------|-----------------|
| Sangat kuat | <50 mg/L |
| Kuat | 50-100 mg/L |
| Sedang | 100-150 mg/L |
| Lemah | >150 mg/L |

2.8 Spektrofotometer FTIR (Fourier Transform Infra Red)

Spektrofotometer FTIR merupakan alat untuk mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawaan dan menganalisis campuran. Banyak pita absorpsi yang terdapat dalam daerah yang disebut daerah “sidik jari” spektrum. Spektrum FTIR suatu sampel dapat diketahui letak pita serapan yang dikaitkan dengan adanya suatu gugus fungsional tertentu (Underwood dan Day, 2002). Spektrofotometer FTIR (fourier transform infrared spectrofometer) merupakan suatu instrument yang digunakan untuk analisis gugus fungsi suatu senyawa dengan memanfaatkan radiasi pada daerah infra merah. Apabila seberkas sinar infra merah dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi diserap sedangkan sebagian frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan. Daerah spektra pada instrument FTIR dibagimenjadi 3, yaitu daerah dekat (antara 0,8-2,5 μm atau 12.500-4.000 cm^{-1}), daerah tengah (antara

2,5-25 μm atau 4000-400 cm^{-1}), dan daerah jauh (antara 25-1.000 μm atau 400-10 cm^{-1}) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Apabila suatu molekul organik mengabsorpsi energ radiasi elektromagnetik infra merah maka akan terjadi vibrasi pada molekul tersebut. Energi yang dibutuhkan antara satu molekul dengan yang lain untuk bervibrasi berbeda sehingga akan menghasilkan spektra yang berbeda pula (Underwood, 1986). Cara identifikasi senyawa yaitu dengan mencocokkan hasil spektera dengan tabel korelasi. Tabel untuk serapan IR dapat dilihat pada tabel 2.3 dibawah ini :

Tabel 2.3 Serapan inframerah dari beberapa gugus fungsi (Khopkar, 2003)

| Gugus Fungsi | Senyawa | Frekuensi (cm^{-1}) |
|--------------|----------|--------------------------------|
| CH | Alkana | 2853-2962 |
| | Alkena | 3010-3095 |
| | Alkuna | 3300 |
| | Aromatik | 3030 |
| | Aldehida | 2700-2900 |
| OH | Alkohol | 3550-3200 |
| | Fenol | 3244 |
| C-O-C | Eter | 1150-1085 |
| C=O | Keton | 1675-1725 |
| | Aldehida | 1720-1740 |
| C=C | Aromatik | 1475 dan 1600 |

BAB III

METODOLOGI

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Maret - Mei 2019 di Laboratorium Kimia Organik, Biokimia dan Instrumen khusus FTIR Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi (SAINTEK) Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass* 500 mL dan 1000 mL, pipet ukur 1 mL, 5 mL dan 10 mL, gelas ukur 100 mL, gelas arloji, bola hisap, spatula, pengayak ukuran 40 mesh, *rotary evaporator vacum*, kuvet, pipet tetes, pisau, tissue, aluminium foil, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, corong pisah, corong buchner, oven, desikator, cawan porselen dan instrumen FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel kulit apel Manalagi di salah satu home industri Kota Batu, larutan etanol p.a, larutan etil asetat p.a, HCl pekat, reagen Dragendorff, reagen Mayer, larutan metanol p.a, serbuk Mg, larutan kloroform, asam asetat anhidrat, gas nitrogen, H₂SO₄ p.a, FeCl₃ 1 %, larutan DPPH, larutan gelatin, kertas saring dan aquades.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *Experimental Laboratory* melalui 2 tahap, pertama menentukan aktivitas antioksidan dan kedua analisis golongan senyawa dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Sampel diambil dari hasil samping proses pengolahan kripik apel berupa kulit apel yang dikeringkan dan digiling dengan 40 mesh. Serbuk yang diperoleh dianalisis kadar airnya kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96 %. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat selanjutnya dialiri gas N₂ untuk memastikan bahwa tidak ada pelarut yang tersisa. Ekstrak etanol dibagi menjadi dua bagian, kemudian bagian ke dua dihidrolisis dengan asam klorida (HCL) 2 N lalu selanjutnya dipartisi dengan etil asetat. etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*.

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat diuji efektivitas antioksidannya pada konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm, begitu pula untuk pembanding asam askorbat kemudian dihitung persen efektivitas antioksidannya dan ditentukan nilai EC₅₀ menggunakan persamaan regresi, lalu diidentifikasi golongan senyawa dalam masing-masing ekstrak secara fitokimia dengan penambahan reagen. Ekstrak hasil uji antioksidan terbaik diidentifikasi golongan senyawa menggunakan instrumen FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

- 1) Preparasi sampel
- 2) Analisis kadar air
- 3) Ekstraksi kulit apel

- 4) Fraksinasi ekstrak etanol kulit apel
- 5) Uji aktivitas antioksidanfraksi etil asetat ekstrak etanol kulit apel dengan metode DPPH
- 6) Uji fitokimia senyawa aktif kulit apel
- 7) Identifikasi senyawa antioksidan menggunakan instrumentasi FTIR
- 8) Analisis data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel (Muslim *et al.*, 2018)

Sampel kulit apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) diperoleh dari salah satu home industri di kawasan Kota Batu Jawa timur. Sebanyak 3 kg kulit apel Manalagi dicuci bersih dengan air mengalir. Kemudian dipotong-potong menjadi ukuran yang lebih kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C selama 24 jam. Kemudian simplisia digiling sampai halus dan berbentuk serbuk, diayak dengan ayakan 40 mesh lalu di timbang untuk mendapatkan berat akhir.

3.5.2 Analisis Kadar Air (AOAC, 1984)

Serbuk kulit apel yang diperoleh diukur kadar airnya dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Serbuk ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven selama 15

menit, disimpan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam serbukkulit apel dihitung menggunakan persamaan (AOAC, 1984):

$$\% \text{kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan: a= beratcawankosong
 b= beratcawan + sampelsebelumdikeringkan
 c= beratcawan + sampelsetelahdikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Kulit Apel Menggunakan Pelarut Etanol (Rohmaniyah, 2016)

Serbuk kulit apel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk kulit apel sebanyak 100 gram direndam pada pelarut etanol 96 % sebanyak 500 mL dengan perbandingan 1:5 (b/v) selama 3×24 jam, dimana setiap 24 jam ekstrak disaring dengan *vacum buchner* dan residunya dimaserasi kembali menggunakan pelarut baru. Maserasi dilakukan pada suhu ruang dan sesekali dibantu dengan pengadukan pada kecepatan 130 rpm selama 3 jam/hari. Filtrat hasil maserasi digabungkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacum* pada suhu 45-50 °C sampai diperoleh ekstrak yang pekat dan dialiri gas N₂. Ekstrak pekat yang dihasilkan kemudian ditimbang. Dihitung rendemennya dengan persamaan (Khopkar, 2003):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.5.4 Hidrolisis dan Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Apel (Safitri, 2016)

Ekstrak etanol sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian dihidrolisis dengan 10 mL HCl 2 N dan distirrer selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang. Hidrolisat yang

diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO_3) sampai pH netral, lalu hidrolisat difraksinasi menggunakan etil asetat.

Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut etil asetat p.a. Pelarut etil asetat ditambahkan ke dalam hidrolisat sebanyak 25 mL. Kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air. Masing-masing lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses fraksinasi dilakukan hingga diperoleh fasa air bening. Lapisan organik dikumpulkan ke dalam *beaker glass* dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* lalu dialiri dengan gas N_2 . Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Apel Menggunakan Metode DPPH

3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Rastuti & Purwati, 2012)

Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol p.a sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan pada rentangan panjang gelombang 500-600 dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.5.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Sampel

- a. Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol p.a sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya,

setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.

- b. Absorbansi sampel: Sampel dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dilarutkan dalam etanol 96 % dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm (Djamil *et al.*, 2012). Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH: ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 3.3 (Molyneux, 2004):

Persamaan efektivitas antioksidan:

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \% \dots\dots(3.3)$$

- c. Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidan, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai EC_{50} dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”.

3.5.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Apel

3.5.6.1 Uji Alkaloid (Indrayani *et al.*, 2006)

Ekstrak kulit apel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 2 % sebanyak 0,5 mL. Larutan dibagi menjadi dua tabung,

tabung I ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendorff sedangkan tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan berwarna jingga dan pada tabung II terbentuk endapan berwarna kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.6.2 Uji Flavonoid (Indrayani *et al.*, 2006)

Ekstrak kulit apel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL methanol panas 50 %. Ditambahkan serbuk Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga.

3.5.6.3 Uji Fenol (Harborne, 1987)

Ekstrak kulit apel sebanyak 30 mg ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1 %. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

3.5.6.4 Uji Tanin (Utami, 2014)

3.5.6.4.1 Uji dengan FeCl_3

Ekstrak kulit apel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Jika bahan mengandung tanin maka akan dihasilkan larutan berwarna hijau kehitaman atau biru tua.

3.5.6.4.2 Uji dengan Gelatin

Ekstrak kulit apel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan gelatin. Apabila terbentuk endapan putih maka bahan tersebut mengandung tanin.

3.5.6.5 Uji Saponin (Sari *et al.*, 2011)

Ekstrak kulit apel sebanyak 1 mg ditambahkan aquades 10 mL dan dikocok kuat-kuat selama 30 menit sampai muncul busa. Tabung reaksi diletakkan dalam posisi tegak selama 30 menit. Apabila masih terdapat busa, maka kemungkinan mengandung saponin. Untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk berasal dari saponin maka diteteskan larutan asam sebanyak 3 tetes, bila busa stabil maka dipastikan terdapat saponin.

3.5.6.6 Uji Steroid dan Triterpenoid (Indrayani *et al.*, 2006)

Ekstrak kulit apel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila terbentuk warna hijau atau biru, maka ekstrak positif mengandung steroid. Sedangkan apabila terbentuk warna ungu-merah, maka ekstrak positif mengandung triterpenoid.

3.5.7 Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Instrumentasi FTIR (Asmara, 2017)

Analisis senyawa aktif ekstrak kulit apel yang mempunyai aktivitas antioksidan terbaik menggunakan FTIR untuk memprediksi senyawa organik aktif dengan mengidentifikasi gugus fungsi melalui serapan sinar inframerah. Ekstrak kulit apel sebanyak 1×10^5 μ g dikeringkan di atas penangas air hingga mengering. Sebanyak 1×10^3 μ g ekstrak yang telah dikeringkan dibuat lempeng dengan menambahkan KBr sebanyak 1×10^5 μ g. Lempeng tersebut dibaca dengan spektrofotometer inframerah.

3.5.8 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi ekstrak etanol kulit apel dan fraksi etil asetat kulit apel pada konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Persen (%) aktivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi sampel kemudian dilakukan perhitungan nilai EC_{50} dengan menggunakan aplikasi “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”. Persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Jika sampel mempunyai nilai EC_{50} rendah, maka menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi.

Identifikasi golongan senyawaaktif ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dilakukan melalui uji fitokimia, sedangkan ekstrak kulit apel yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Data yang diperoleh dari identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR berupa spektra-spektra yang menunjukkan keberadaan gugus fungsional atau jenis ikatan tertentu pada bilangan gelombang tertentu

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit apel Manalagi yang diperoleh dari salah satu home industri kripik apel di Kecamatan Batu Kota Batu. Preparasi sampel diawali dengan memisahkan kulit apel yang busuk dan daging buah apel pada kulit apel. Kemudian pencucian sampel untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan lain menggunakan air bersih. Kulit apel yang sudah bersih kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaannya sehingga mempermudah penguapan air pada proses pengeringan. Pengeringan kulit apel menggunakan oven suhu 40 °C selama 24 jam dan didapatkan kulit apel kering dan berwarna coklat tua. Proses pengeringan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar sampel dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Baraja, 2008). Menurut Rusli dan Darmawan (1988) bahwa pengeringan suatu bahan yang terlalu lama dan menggunakan suhu tinggi menyebabkan dekomposisi senyawa aktif dalam sampel. Hasil pengeringan kulit apel menghasilkan serbuk kulit apel kering sebanyak 430 g dari kulit apel basah 3 kg.

Kulit apel yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dan diayak untuk memperoleh serbuk yang homogen ukuran ≥ 40 mesh. Proses penghalusan dan pengayakan bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga interaksi antara pelarut dengan sampel akan semakin besar dan senyawa aktif yang terekstrak semakin banyak serta proses ekstraksi akan semakin efektif. (Baraja,

2008). Serbuk kulit apel Manalagi yang dihasilkan berwarna coklat muda disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri yaitu dengan prinsip air yang terkandung dalam suatu bahan akan menguap bila bahan tersebut dipanaskan pada suhu 105 °C selama waktu tertentu hingga berat konstan, perbedaan berat sebelum dan sesudah dipanaskan merupakan kadar air yang terkandung di dalam bahan tersebut. Dikatakan berat sudah konstan apabila selisih antara penimbangan adalah tidak lebih dari 0,002 gram.

Hasil analisa kadar air sampel kering kulit apel yaitu 8,02 %. Besarnya kadar air pada sampel ini sesuai dengan standar yang ditentukan oleh Farmakope Indonesia. Farmakope Indonesia menyatakan bahwa kadar air pada suatu simplisia bahan obat tidak boleh melebihi 10 % (Departemen Kesehatan RI, 1995). Cahyono *et al.* (2011) menyatakan jika kadar air lebih besar dari 10 % maka dapat menyebabkan reaksi enzimatik sehingga mempercepat pembusukan sampel. Semakin rendah nilai kadar air sampel maka akan lebih mudah pelarut untuk mengekstrak senyawa aktif yang diinginkan.

4.3 Ekstraksi Kulit Apel

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam kulit apel Manalagi dengan melakukan perendaman disertai pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang tanpa disertai pemanasan. Perendaman menyebabkan pelarut masuk ke dalam sampel dan senyawa aktif dari sampel akan keluar bersama pelarut akibat tekanan osmosis. Pelarut yang digunakan adalah

pelarut etanol 96 %. Pelarut etanol 96 % dipilih agar senyawa dalam kulit apel Manalagi yang memiliki tingkat kepolaran sama dengan pelarut etanol mudah terekstrak. Senyawa flavonoid cenderung bersifat polar dan semi polar, sehingga dapat larut dalam pelarut etanol yang bersifat polar. Hal ini disebabkan flavonoid terikat pada ikatan glikosida pelarut etanol sehingga dapat terekstrak dalam pelarut etanol. Senyawa aktif yang terekstrak dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarut (*like dissolves like*).

Maserasi kulit apel dilakukan selama 3 hari perendaman dengan perbandingan pelarut dan sampel 1:5. Rahmadani and Satrimafitrah (2018) melakukan variasi perbandingan pelarut pada saat proses ekstraksi maserasi dengan perolehan randemen semakin meningkat. Artinya, semakin banyak pelarut yang digunakan maka metabolit sekunder yang terekstrak semakin banyak. Begitu pula dengan waktu perendaman, randemen yang dihasilkan dari suatu proses ekstraksi akan meningkat seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi (Annisas, 2013). Ketika proses maserasi berlangsung dilakukan pengadukan menggunakan shaker selama 3 jam tiap hari. Proses pengadukan bertujuan agar kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen (Vogel, 1978). Maserasi dilakukan 3 kali pengulangan sampai didapatkan filtrat berwarna bening. Hasil maserasi menunjukkan filtrat kulit apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) yang semula berwarna coklat tua berubah menjadi coklat muda. Hal ini diasumsikan bahwa senyawa aktif yang terdapat dalam kulit apel Manalagi telah terekstrak.

Filtrat hasil maserasi dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 50 °C, penurunan tekanan dan dipercepatnya

putaran labu alas bulat menyebabkan pelarut akan menguap 5-10 °C pada suhu di bawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Ekstrak pekat yang diperoleh dialiri dengan gas N₂ untuk menghilangkan sisa pelarut.

Hasil randemen ekstrak pekat kulit apel Manalagi sebesar 30,0089 %. Penelitian yang dilakukan Pertiwi et al., (2016), tentang ekstraksi kulit apel menghasilkan randemen sebesar 30,74 % dari berat sampel 500 g. Sehingga perbandingan pelarut dan sampel yang digunakan baik karena senyawa aktif terekstrak semua.

4.4 Hidrolisis dan Fraksinasi Ekstrak Pekat Etanol Kulit Apel

Hidrolisis ekstrak pekat etanol kulit apel bertujuan untuk memutuskan ikatan glikosida pada glikon (gula) dan aglikon (senyawa metabolit sekunder) menggunakan asam kuat karena sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat di alam masih berikatan dengan gula membentuk ikatan glikosida. Penelitian ini menggunakan asam klorida (HCl) 2 N sebagai katalis asam pada proses hidrolisis.

Reaksi hidrolisis merupakan reaksi *reversible* (bolak-balik), sehingga apabila tidak dihentikan maka akan terbentuk kembali ikatan glikosida. Penetralkan hidrolisis pada ekstrak pekat etanol kulit apel Manalagi dilakukan dengan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO₃) sampai terbentuknya gelembung yang diduga merupakan gas CO₂.

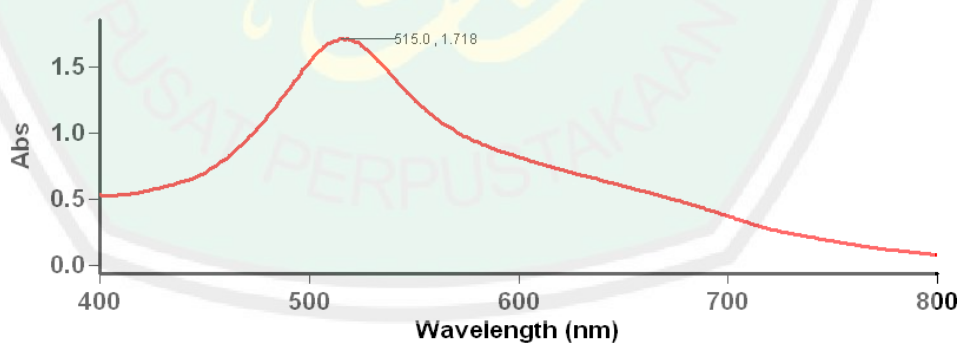
Ekstrak etanol hasil hidrolisis dilanjutkan proses fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode ekstraksi cair-cair. Tujuan proses fraksinasi ini adalah untuk mengekstrak senyawa aktif yang memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan pelarut etil asetat yaitu semi polar. Hasil fraksinasi menunjukkan terbentuknya dua lapisan, lapisan atas adalah fasa organik dan lapisan bawah

adalah fasa air. Hal tersebut karena perbedaan massa jenis diantara keduanya, massa jenis etil asetat sebesar dan 0,894 g/mL lebih kecil dibandingkan massa jenis air 1 g/mL. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 50 °C, sehingga diperoleh fraksi pekat etil asetat kuli apel Manalagi dengan rendemen sebesar 27,3387 % dengan berat ekstrak 2,7339 gram yang merupakan hasil dari 10 g berat ekstrak pekat etanol.

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Apel dengan Metode DPPH

4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi terhadap DPPH. Menurut Gandjar dan Rohman (2007), pada panjang gelombang maksimum perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar sehingga akan dihasilkan absorbansi yang maksimal. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.1:



Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

Berdasarkan spektra pada Gambar 4.1, λ_{maks} DPPH 0,2 mM berwarna ungu adalah 515,0 nm. Hasil ini sesuai dengan penelitian Prakash (2007) yaitu λ

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan kontrol larutan DPPH 0,2 mM. Arindah (2010) menyatakan bahwa larutan DPPH kontrol digunakan untuk memberikan pembanding pada saat pengukuran kapasitas antioksidan pada sampel. Larutan kontrol juga berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH sebelum direduksi oleh sampel. Selisih absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada Spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar nilai absorbansi DPPH sisa, maka aktivitas antioksidan sampel semakin kecil, sebaliknya jika nilai absorbansi DPPH sisa semakin kecil maka aktivitas antioksidan sampel semakin besar. Persentase efektivitas antioksidan dalam berbagai konsentrasi dilihat pada Lampiran 5.

Persentase aktivitas antioksidan yang didapatkan kemudian dihitung aktivitasnya untuk mencari nilai EC_{50} . Semakin besar nilai EC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin kecil, sebaliknya semakin kecil nilai EC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai EC_{50} dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Nilai EC_{50} pada sampel kulit apel Manalagi

| Sampel | EC_{50} (ppm) |
|--------------------|-----------------|
| Ekstrak etanol | 861,9 |
| Fraksi etil asetat | 82,19 |

Nilai EC_{50} fraksi etil asetat lebih rendah dibandingkan nilai EC_{50} ekstrak etanol. Lemahnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit apel Manalagi disebabkan karena sampel masih berupa ekstrak kasar sehingga didalamnya masih terdapat berbagai jenis senyawa. Berdasarkan uji fitokimia, kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak etanol adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin,

steroid dan triterpenoid begitu juga fraksi etil asetat kulit apel Manalagi. Perbedaannya adalah adanya gugus gula pada ekstrak etanol yang menghalangi senyawa aktif menangkal radikal bebas DPPH. Hal ini dapat dilihat dari nilai EC_{50} ekstrak etanol sebesar 861,9 ppm.

Secara kualitatif, aktivitas antioksidan sampel dapat dilihat dari perubahan warnanya dari ungu menjadi kuning. Hasil pengukuran ekstrak etanol ketika ditambahkan larutan DPPH tidak mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning, hanya terjadi pemudaran warna dari ungu pekat menjadi ungu muda pada konsentrasi 400 ppm. Menurut Prakash (2001) pengurangan intensitas warna berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap elektron hidrogen dari senyawa antioksidan. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas.

Pengujian antioksidan ini dibandingkan dengan antioksidan asam askorbat teori. Penggunaan pembanding ini bertujuan untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan dalam sampel jika dibandingkan dengan antioksidan sintetik yang sudah sering dipakai yaitu asam askorbat. Pembanding asam askorbat memiliki potensi antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Berdasarkan penelitian Rizkia (2014), vitamin C sebesar 4,58 ppm memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Kekuatan aktivitas antioksidan vitamin C dipengaruhi oleh kemampuan mendonorkan dua atom hidrogen kepada radikal DPPH dan membentuk radikal L-askorbil yang stabil. Selain itu, vitamin C merupakan radikal yang stabil karena keduanya memiliki bentuk siklik dengan ikatan rangkap sehingga dapat mendelokalisasikan elektronnya.

Fraksi etil asetat masih merupakan campuran dari berbagai senyawa, sehingga diduga adanya efek antagonis dari salah satu senyawa dalam fraksi tersebut. Efek antagonis dapat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan dalam fraksi etil asetat yang ditunjukkan dengan nilai EC50 yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol.

Semakin kecil nilai EC50 maka aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu bahan semakin kuat. Berdasarkan hasil penelitian fraksi etil asetat konsentrasi 800 ppm memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dengan nilai EC50 82,19 ppm.

4.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Apel

Uji kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit apel Manalagi meliputi uji keberadaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, steroid dan triterpenoid. Hasil analisis uji fitokimia senyawa aktif yang terdapat di dalam kulit apel Manalagi dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak kulit apel

| Golongan Senyawa | Ekstrak Etanol | Fraksi Etil Asetat |
|--------------------------|----------------|--------------------|
| Alkaloid | | |
| – Reagen Dragendorff | + | ++ |
| – Reagen Mayer | + | ++ |
| Flavonoid | +++ | ++ |
| Saponin | - | - |
| Fenol | ++ | + |
| Tanin | | |
| – FeCl ₃ | + | + |
| – Gelatin | - | - |
| Steroid dan triterpenoid | + | ++ |

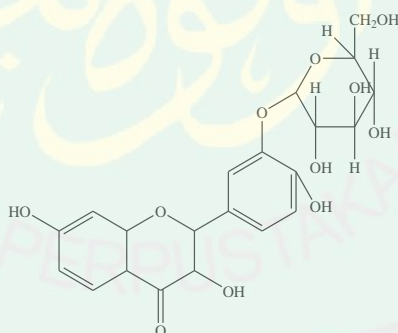
Keterangan: (+) menunjukkan hasil positif, (-) menunjukkan hasil negatif

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa senyawa aktif yang terdeteksi pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi yaitu golongan alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid dan triterpenoid. Senyawa-

senyawa metabolit sekunder golongan fenol, nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino dan amina), dan karotenoid seperti asam askorbat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan alami (Ernawati, 2012).

Ekstrak etanol mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenol lebih banyak dibandingkan fraksi etil asetat. Sedangkan fraksi etil asetat lebih banyak mengandung senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hal ini karna sifat senyawa aktif yang larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama sesuai dengan teori *like dissolves like*.

Kulit apel Manalagi mengandung senyawa aktif paling banyak senyawa flavonoid. Hasil uji fitokimia menunjukkan perubahan warna tajam menjadi jingga. Flavonoid yang terglukosilasi menyebabkan flavonoid menjadi kurang reaktif dalam meredam radikal bebas. Senyawa flavonoid dan senyawa gula dihubungkan dengan ikatan glikosidik sehingga terbentuk glikosida flavonoid. Berikut ini bentuk glikosida flavonoid :

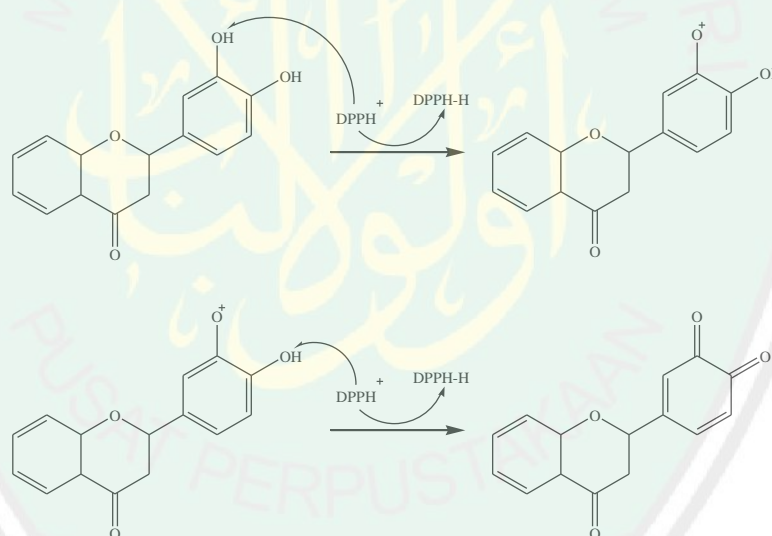


Gambar 4.3 Glikosida flavonoid

Penambahan HCl sebagai katalis asam dapat memutus ikatan glikosidik pada glikosida flavonoid sehingga akan terbentuk aglikon flavonoid dengan penambahan gugus hidroksil dan glikon dalam bentuk hemiasetal siklik. Penambahan gugus hidroksil dalam aglikon flavonoid mampu meningkatkan

keefektifan antioksidan dalam flavonoid. Aglikon flavonoid tanpa glikon dapat mendonorkan lebih banyak elektronnya kepada radikal bebas.

Albulescu dan Puscau (2008) membandingkan efektivitas antioksidan dari ekstrak glikosida kedelai dan aglikon isoflavon kedelai didapatkan nilai efektivitas antioksidan aglikon isoflavon kedelai lebih besar yaitu 82 % dibandingkan dengan ekstrak glikosida kedelai sebesar 75 %. Selain itu, banyaknya gugus gula yang mengikat flavonoid menyebabkan berkurangnya efektivitas antioksidan flavonoid. Kuersetin (flavonoid tanpa gula) teroksidasi paling cepat, diikuti oleh quercitrin (flavonoid yang terikat pada monosakarida) selanjutnya rutin (flavonoid yang terikat pada disakarida) (Hopia dan Heinonen, 1999). Berikut ini dugaan reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh flavonoid :

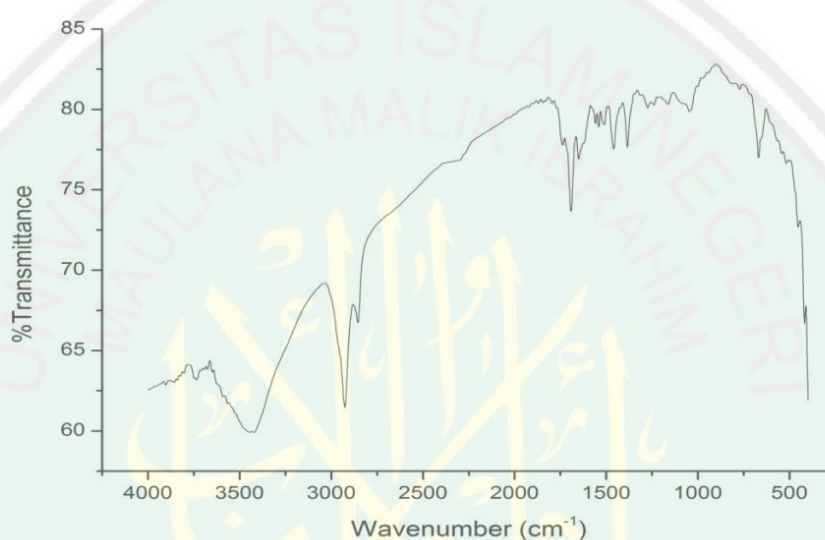


Gambar 4.4 Reaksi persamaan radikal bebas DPPH oleh flavonoid (Marliana et al.,2012)

4.7 Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Instrumentasi FTIR

Identifikasi senyawa antioksidan dalam penelitian ini menggunakan instrumen FTIR. Identifikasi menggunakan instrumen FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel fraksi etil asetat. Sampel

dimasukkan ke instrumen FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000cm^{-1} – 400cm^{-1} . Menurut Sastrohamidjojo (2013), kebanyakan senyawa organik dapat dicatat pada daerah dalam bilangan gelombang tersebut dimana serapan gugus fungsi pada umumnya seringkali terjadi. Hasil identifikasi menggunakan FTIR dalam penelitian ini disajikan pada gambar 4.5 yang menunjukkan spektra dari senyawa golongan flavonoid.



Gambar 4.5 Spektra FTIR fraksi etil asetat

Hasil spektra pada Gambar 4.5 menunjukkan adanya serapan gugus O-H pada bilangan gelombang $3446,121\text{ cm}^{-1}$, $1691,442\text{ cm}^{-1}$ (gugus C=C aromatik), $669,079\text{ cm}^{-1}$ (gugus =C-H siklik), dimana bilangan gelombang tersebut merupakan serapan khas dari senyawa flavonoid. Serapan gugus fungsi dari senyawa flavonoid ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Interpretasi spektra FTIR fraksi etil asetat

| Bilangan Gelombang (cm^{-1}) | Range Pustaka(cm^{-1}) (Socrates,1994) | Jenis Vibrasi |
|--|--|--|
| 3446 | 3590-3400 | O-H (ulur) |
| 2926 | 2940-2915 | CH ₂ (ulur asimetri asiklik) |
| 2855 | 2870-2840 | CH ₂ (ulur simetri asiklik) |
| 2000-1650 | 2000-1650 | <i>Overtone</i> atau kombinasi vibrasi cincin aromatik |
| 1691 | 1700-1660 | C=O (ulur) |
| 1650 | 1650-1620 | C=C (ulur) grup etilen |
| 1540 dan 1458 | 1600-1450 | C=C (ulur aromatik) |
| 1384 | 1385-1365 | -C(CH ₃) ₂ |
| 1161 | 1335-1115 | OH tersier |
| 1044 | 1125-1000 | C-O (tekuk) sekunder |
| 669 | 995-650 | =C-H (tekuk) siklik |

Spektra yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat menunjukkan adanya serapan-serapan khas untuk beberapa gugus fungsi, diantaranya pada bilangan gelombang 3446 cm^{-1} yang menunjukkan adanya serapan melebar sebagai vibrasi ulur -OH yang mendukung adanya senyawa flavonoid yang memiliki gugus OH bebas dan diperkuat dengan vibrasi tekuk C-O alkohol pada daerah 1044 cm^{-1} . Vibrasi pada bilangan gelombang 1540 dan 1458 cm^{-1} merupakan serapan dari regangan cincin C=C aromatik sebagai gugus kromofor dalam sistem ikatan terkonjugasi. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi *overtone* atau kombinasi vibrasi cincin aromatik pada bilangan gelombang 2000-1650 cm^{-1} dan adanya C-H siklik pada 669 cm^{-1} . Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1691 cm^{-1} dengan pita serapan intensitas lemah juga menunjukkan adanya gugus C=O.

Hasil uji konfirmasi dengan spektrofometer FTIR menunjukkan bahwa pada fraksi etil asetat kulit apel Manalagi terdapat vibrasi gugus -OH, =C-H siklik, C=C aromatik, C=O dan C-O.

4.8 Pemanfaatan Kulit Apel Manalagi dalam Perspektif Agama Islam

Allah telah mengkaruniakan bumi dan seluruh isinya untuk kehidupan manusia. Bumi Allah terhampar berbagai macam makhluk hidup diantaranya berbagai macam tanaman yang berbeda satu sama lainnya. Berbagai macam tanaman tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai lahan penghidupannya. Ayat Alquran sebagai pedoman hidup manusia menerangkan tentang tanaman yang memiliki banyak manfaat dan tidak ada yang sia-sia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al An'aam ayat 141 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya:

“Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (QS. al An'aam: 141).

Ayat tersebut menerangkan bahwa Allah dengan segala karunia-Nya telah menciptakan berbagai macam tanaman baik merambat maupun tanaman yang dapat berdiri tegak di permukaan tanah. Dari berbagai jenis tanaman tersebut akan tumbuh bermacam-macam buah yang berbeda bentuk maupun rasanya. Maka, Allah memerintahkan manusia untuk memakan berbagai macam buah-buahan tersebut tanpa berlebih-lebihan dan menyedekahkannya, karena sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang melampaui batas (Jaelani, 2000). Tanaman apel

merupakan tanaman yang berbuah. Buah tanaman apel memiliki rasa manis, namun manusia hanya memanfaatkan buahnya tanpa kulitnya. Allah memerintahkan manusia untuk memanfaatkan tanaman yang terhampar dimuka bumi-Nya dengan memanfaatkannya sebagai bahan makanan atau manfaat yang lainnya seperti pengobatan. Penjelasan ayat di atas juga dipertegas dengan Firman Allah dalam Alquran surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۚ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسِي ۚ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ ۚ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya:

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Luqman:10)

Kata *karim* yang terdapat dalam surat Luqman ayat 10 tersebut digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik, sesuai obyeknya. Rizki yang *kariim* adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Tumbuhan yang *kariim* adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya (Shihab, 2003). Apel merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dengan baik. Salah satu pemanfaatan tanaman apel yaitu banyak mengandung zat yang bermanfaat bagi tubuh. Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia.

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etanol 96 % dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi EC₅₀ berturut-turut 861,9 dan 82,19 ppm. Nilai tersebut merupakan ukuran kemanfaatan kulit apel Manalagi sebagai antioksidan. Antioksidan dalam kulit apel Manalagi telah terbukti dapat menangkal radikal

bebas. Hal ini dapat kita ketahui bahwa semua bagian dari tumbuhan memiliki manfaat.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih baik daripada ekstrak etanol. Nilai EC_{50} ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi sebesar 816,9 ppm dan 82,19 ppm.
2. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat kulit apel Manalagi dengan uji fitokimia adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid dan triterpenoid. Sedangkan identifikasi fraksi etil asetat kulit apel Manalagi menggunakan spektrofotometer FTIR diduga mengandung gugus fungsi OH, C=C cincin aromatik, C=O, C-O dan =C-H siklik.

5.2 Saran

Perlu dilakukan isolasi (pemisahan) dan pemurnian dari fraksi etil asetat kulit apel Manalagi untuk mengetahui senyawa murni yang berpotensi sebagai antioksidan. Kemudian dilanjutkan dengan identifikasi senyawa menggunakan instrumen GC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Penerbit Karunika.
- Ahmad, M. M. 2006. *Anti Inflammatory Activities of Nigella sativa Linn* (Kalongi, black seed).
- Agustin, W., Nurhamidah, & Handayani, D. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). *ALOTROP Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. Volume 1, Nomer 2: 117-122.
- Alfiah, Ida. 2016. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Petaya Gunung (*Carica pubescens* Lenne & K. Koch) terhadap Bakteri *Salmonella typhi* secara In Silico dan In Vitro. *Sripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Al-Mahalli, I. J. 2008. Terjemahan Tafsir Jalalain Berikut Asbabun Nuzul. Jilid 1. Bandung: Sinar Baru Algesindo.
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. Tafsir Al Qurthubi (13th ed.). Jakarta: Pustaka Azam.
- Arnelia. 2002. Fitokimia, Komponen Ajaib Cegah PJK, Diabetes Mellitus & Kanker. <http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.cgi.artikel>.
- AOAC 1984. *Official Methods of Analysis the Association of Official Analytical Chemist, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- Asih, I. A. R., Astiti & Setiawan, I. M. A. 2010. Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak *n*-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). *Jurnal Kimia*. Volume 2, Nomer 2: 111-116. ISSN 1907-9850.
- Balasuriya, N. & Rupasinghe H. P. V. 2012. Antihypertensive Properties of Flavonoid-Rich Apple Peel Extract. *Food Chemistry*. Volume 135, Nomer 4: 2320–2325.
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan identifikasi golongan senyawa aktif dari daging buah pare (*Momordica charantia L.*). *Jurnal Kimia*. Bali: FMIPA Universitas Udayana.
- Braithwaite, A. & Smith, F. J. 1985. *Chromatographic Methods*, Fourth Edition. London: Chapman and Hall.
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bandung: Bumi Aksara.

- Cahyono, B., Huda, M.D.K., Limantara, L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB) Terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*. Volume 13, Nomer 3: 165 – 171.
- Carodina, Desy. 2000. Penentuan Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Sari Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill) Varietas Manalagi dan Anna Terhadap Diphenyl Picryl Hydrazyl (DPPH) Secara Spektrofotometri Tampak. *Abstrak*. University of Surabaya Repository.
- Charde, M. S., Ahmed A., & Chakole, R. D. 2011. Apple Phytochemicals for Human Benefits. *International Journal of Pharmacological Research*. Volume 1, Nomer 2: 1-8.
- D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A. 2007. 'Limoncella' Apple, an Italian Apple Cultivar: Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity. *Food Chemistry*. Volume 104: 1333–1337.
- Damayanthi, E. 2010. Karakteristik bekatul padi (*Oryza sativa*) awet serta aktivitas anti oksidan dan penghambatan proliferasi sel kanker secara in vitro dari minyak dan fraksinya. Bogor: Disertasi Doktoral Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Pangan, Institusi Pertanian Bogor.
- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati FMIPA Universitas Andalas. Padang
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia* (IV). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., & Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Jurnal*. Lampung: Universitas Lampung.
- Djamil, R., Wahyudi, Wahono, & Hanafi, M. 2012. Antioxidant Activity of Flavonoid From *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves. *International Research Journal of Pharmacy*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Doss, A. & Pugalenti, M. 2012. Evaluation of Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of *Malus Domestica* Borkh (Apple) and *Phaseolus Vulgaris* L. (Green Beans). *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. Volume 1, Nomer 3: 1-4.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.

- Febriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara *In Vitro*. *Skripsi* tidak diterbitkan. Bogor: Fakultas MIPA IPB.
- Fessenden, R. J. & Fessenden, J. S. 1997. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Figueroa-Espinoza, M. C., Zafimahova, A., Alvarado, P. G. M., Dubreucq, E., & Poncet-Legrand, C. P. 2015. Grape Seed and Apple Tannins: Emulsifying and Antioxidant Properties. *Food Chemistry*. Volume 178: 38–44.
- Golding, J. B., McGlasson, W. B., Wyllie S. G., & Leach, D.N. 2001. Fate of apple peel phenolics during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 49, Nomer 5: 2283-2289.
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsevier Applied Science.
- Guenther, E. 2006. Minyak atsiri. Jilid I. *Terjemahan Ketaren S*. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Hanani, E., Abdul, M., & Ryany, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Volume II, Nomer 3: 127-133. ISSN: 1693-9883.
- Handa, Swami, S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *Trieste : International Centre for Science and High Technology*.
- Hapsari, M. D. Y. & Estiasih, Teti. 2015. Variasi Proses dan Grade Apel (*Malus sylvestris* mill) pada Pengolahan Minuman Sari Buah Apel: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 3, Nomer 3: 939-949.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB Press.
- Hashemi, Mehrdad & Yousefzadeh, Mahmoud. 2015. *Anticancer Effects of Triterpenoid Extracted from Apple Peel on Human B cell Lymphoma International Conference on Plant, Marine and Environmental Sciences (PMES-2015)*. <http://dx.doi.org/10.15242/IICBE.C0115011>.
- Hattenschwiler, S. & Vitousek, P. M. 2000. The Role of Polyphenols in Terrestrial Ecosystem Nutrient Cycling. *Review PII: S0169-5347(00)01861-9 TREE*. Volume 15.
- He, X. & Liu, R. H. 2007. Triterpenoids Isolated from Apple Peels Have Potent Antiproliferative Activity and May Be Partially Responsible for Apple's

Anticancer Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 55, Nomer 11: 4366-4370

- He, X. & Liu, R. H. 2008. Phytochemicals of Apple Peels: Isolation, Structure Elucidation, and Their Antiproliferative and Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 54, Nomer 21: 9905-9910.
- Hegazy, A. E. 2107. Antioxidant Activity of Apple Peel Extracts Prepared by Different Solvents. *Journal of Agriculture Reserch*. Volume 44, Nomer 6B: 2665-2671.
- Hernani & Rahrjo. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidayat, N., Maryani, S., & Djojowasito, G. 2009. Pemanfaatan Limbah Industri Kripik Apel untuk Produksi Cuka Apel. <http://nurhidayat.lecture.ub.ac.id/2009/02/27/pemanfaatan-limbah-industri-kripik-apel-untuk-produksi-cuka-apel/>. 16 Maret 2018.
- Hoffman, M. R., Martin, S. T., Choi, W., & Bahneman, D. W. 1995. Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. *Chem. Rev.* Volume 1, Nomer 95: 69-96.
- Indrayani, L., Soedjipto, H., & Sihasale, L. 2006. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda Terhadap Larva Udang*. Kristen Satya Wacana Salatiga.
- Iswara, A. 2009. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpajan Alletherin. *Skripsi*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- JAnnata, R. H., Gunadi, A., & Ermawati, T. 2014 Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Journal Pustaka Kesehatan*. Volume 2, Nomer 1.
- Jiangning, G., Xinchu, W., Hou, W., Qinghua, L., Kaishun, B. 2005. Antioxidants from a Chinese medicinal herb – *Psoralea corylifolia* L. *Food Chemistry*. Volume 91, Issue 2: 287–292.
- Julianto, Tatang S. 2016. *Minyak Atsiri Bunga Indonesia*. Yogyakarta: Deepublish.
- Kandaswami, C & Middleton, E. 1997. *Flavonoids as antioxidant*, In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illions: AOCS Press.
- Katiyo, W., Yang, R. & Zhao, W. 2018. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Chinese Red-Fleshed Apples (*Malus pumila* Niedzwetzkyana

(Dieck) and Effect of Different Pasteurization Treatments on The Cloudy Juice. *International Food Research Journal*. Volume 25, Nomer 5: 2185-2194.

Khanizadeh, S., Ding, L., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M. T., Vigneault, C., & Rupasinghe H. P. V. 2007. Phytochemical Distribution among selected Advanced Apple Genotypes Development for fresh Market and Processing. *Journal of Agricultur, Food, dan Environment. Sciences*. Volume 1, Nomer 2. ISSN 1934-7235.

Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T., & Rupasinghe, H.P. 2008. Polyphenol Composition and Total Antioxidant Capacity of Selected Apple Genotypes for Processing. *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume 21: 396-401.

Khoiroh, Nazilatul. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metano Kulit Buah Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang.

Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik Penerjemah A. Saptorahaedjo*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Kim, M. J., Kim, Y. G., Kim, H. S., Cheong, C., Jang, K. H., & Kang, S. A. 2014. Effects of Antioxidant Activities in Ethanol Extract of Apple Peel, Grape Peel, and Sweet Potato Peel as Natural Antioxidant. *Journal of the Korea Academia-Industrial*. Volume 15, Nomer 6: 3766-3773.

Kumala, L.D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

Kusumawati, P. 2009. *Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan Dari Makroalga Dan Mikroalga*. Oseana. Volume 34, Nomer 3: 9-18.

Kusumo, S. & Verheij, E. W. M. 1997. Pelatihan: pemangkasan dan pelengkungan. Dalam E. W. M. Verheij and R. E. Coronel (Eds.). *Prosea Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2: Buah-buahan yang Dapat Dimakan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. Halaman 34-43.

Kyung-hae, L., Ji, Y. Y., Won, K. H., & Lee, E. E. 2018. Antioxidant Component and Activity of Different Part Extracts in Apple (*Malus domestica* cv. Fuji). *The Korean Journal of Food and Nutrition*. Volume 31, Nomer. 6: 858-864.

- Lees, G. L., Wall, K. M., Beveridge, T. H., & Suttill, N. H. 1995. Localization of Condensed Tannins in Apple Fruit Peel, Pulp, and Seeds. *Canadian Journal of Botany*. Volume 73.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Leontowicz *et al.* 2003. Apple and Pear Peel and Pulp and Their Influence on Plasma Lipids and Antioxidant Potentials in Rats Fed Cholesterol-Containing Diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Volume 51, Nomer 19: 5780-5785.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D.K. 1996. Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective. *Food Science & Technology*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshoi, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. Volume 6, Nomer 2: 93-100.
- Manik, J. 2011. Karakterisasi Simplisia dan Skrining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksan Etilasetat dan Etanol Rumput Laut *Sargassum polycystum* C. Agardh. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Mansyur, S. 2008. Penataan Arsitektur Tajuk pada Saat Perompesan untuk Optimasi Fotosintesis dan Pertumbuhan Generatif pada Tanaman Ape Varietas Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Mariana, L., Andayani, Y., & Gunawan, R. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Chem. Prog.* Volume 6, Nomer 2: 50–55.
- Mark, H.F. 2013. *Encyclopedia Of Polymer Science and Technology, Concise*. John Wiley and Sons. ISBN 0470073691, 9780470073698.
- Markham, K.R. (1988). Cara mengidentifikasi flavonoid. *Diterjemahkan oleh Kosasih Padrnawinata*. Bandung: ITB.
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis 71 Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. Volume 3, Nomer 1: 26–31. Retrieved from <http://biosains.mipa.uns.ac.id/F/F0301/F030106.pdf>.

- Massini, L., Rico, D., Diana, A. B. M., & Barry-Ryan, C. 2013. Valorisation of Apple Peels. *European Journal of Food Research & Review*. Volume 3, Nomer 1: 1-15.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin. *Journal of Science and Technology*. Volume 26, Nomer 2: 211-219.
- Mullen, W., Marks, S. C., & Crozier A. 2007. Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juice and fruit drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 55, Nomer 8: 3148-3157.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Akasara.
- Mun'im, A., Azizahwati, & Trastianan 2008. Aktivitas Antioksidan Cendawan Suku Pleurotaceae Dan Polyporaceae dari Hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Volume 5, Nomer 1: 36-41.
- Muslim, M. A., Komala, O., Utami, N. F. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96 % Buah Apel Manalagi, Kulit Kayu Manis dan Kombinasi terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*. Volume 1, Nomer 1.
- Nishizawa. 2005. *Non Reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical*, Japan, Published Online. [www.53714.DPPH&ASCORBAT = print.pdf](http://www.53714.DPPH&ASCORBAT=print.pdf). Diakses tanggal 30 Juli 2010.
- Nollet, L.M.L. 2000. *Food Analysis by HPLC*. Two Edition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Nunes, X.P; Silva, F.S; Almeida, J.R.G.S; Junior, L.J.Q; Filho, J.M.B. 2012. Biological Oxidations and Antioxidant Actyvity of Natural Products. *Jurnal Phytochemicals as Nutraceuticals*. Brazil-Universidade federal do Vale do Sao Francisco.
- Oesman, F., Murniana, Khairunnas, M., & Saidi, N. 2010. Antifungal Activity of Alkaloid from Bark of *Cerbera odollam*. *Jurnal Natural*. Volume 10, Nomer 2.
- Parker. (1995). *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall, Inc.: Upper Saddle River.
- Parwata, I. M. O. A., Wiwik, S. R., & Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. Volume 3, Nomer 1:131-136. ISSN: 1907-9850.

- Pertiwi R. D., Yari C. E., & Putra F. P., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Limbah Kulit Buah Apel (*Malus domestica* Borkh.) terhadap Radikal Bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Volume 2, Nomer 1: 81-92.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Progress. Volume 10, Nomer 2.
- Purwatesna, E. 2012. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air Dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Purwono, & Hartono, R. 2008. *Bertanam Jagung Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Putra, D. A. D. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Bunga Tahi Ayam (*Tagetes Erecta* L.) serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Medan: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Qadeer, R. & Rehan, A.H. 2002. A Study Of The Adsorption of Phenol by Activated Carbon from Aqueous Solutions, *Turkish Journal of Chemistry*. Volume 26, Nomer 3: 357–361.
- Rahayu, D & Hastuti, S.D. 2009. Stabilitas Saponin sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe barbandis miller pada Variasi Suhu dan Lama Simpan. *Jurnal*. Malang: Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahmawan, J. B. Y. & Dwiatmaka, Y. 2013. Penetapan Kandungan Fenolat Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal DPPH Fraksi Etil Asetat Sari Buah Apel Beludru (*Diospyros blancoi* A. DC.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Volume 10, Nomer 2: 101-110. ISSN : 1693-5683
- Rastuti, U. & Purwati. 2012. Uji Aktivitas antioksidan daun kalba (*Albizia falcataria*) dengan metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknik Universitas Jenderal Soedirman. *Jurnal Molekul* Volume 7, No 1.
- Reagan-Shaw, S., Eggert, D., Mukhtar, H., & Ahmad, N. 2010. Antiproliferative Effects of Apple Peel Extract Against Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*. Volume 62, Nomer 4: 517–524.

- Rehab, M. A. E., Sowair, S. A., & Ahlam, A. A. 2018. The Phytochemical and Antimicrobial Effect of *Mallus domestica* (Apple) Dried Peel Powder Extracts on Some Animal Pathogens as Eco-Friendly. *International Journal of Veterinary Science*. Volume 7, Nomer 2: 88-92.
- Robinson, T. 1995. Kandungan senyawa organik tumbuhan tinggi. *Terjemahan Kokasih Padmawinata*. Bandung: ITB.
- Rohman, A. & Gandjar. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohman, A. & Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) *Journal Agricultural technology*. Volume 25, Nomer 3:131-136.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan dan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends*. Volume 4, Nomer 1.
- Sari, P. P., Rita, W. S., & Puspawati, N. M. 2011. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (samanea saman(jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri Escherichia coli*. 27–34.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sastrohamidjojo. 1996. *Sintesis Bahan Alam. Cetakan Pertama*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sax, D. & Lewis, R. 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Gallier International.
- Septiani, R., Marianne, & Nainggolan, M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi n-Heksan Serta Fraksi Etil Asetat Daun Jamblang (*Syzygium Cumini L. Skeels*) dengan Metode DPPH. *TM Conference Series 02*. Volume 1, Issue 2: 361–366.
- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus lamk*). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Shahidi, F., Wanasundoro, U., & Amarowicz,. 1995. Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant Activity, Dalam Charolambous, editor, *Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence*. London: Elvisier Applied Science.
- Shihab, Q. 2003. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.

- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Singh, R. & Kumari, J. 2019. Analysis of Glycoside Compound in Apple Family Fruit and Its Detection by Using HPLC Method. *Asian Journal of Plant Science and Research*. Volume 9, Nomer 1: 1-13.
- Soelarso, B. 1997. *Budidaya Apel*. Yogyakarta: Kanisius.
- Soematmaji, D.W. 1998. Peran stress oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. *Medika Jurnal Kedokteran dan Farmasi*. Volume 5, Nomer 24: 609-14.
- Stoenoiu, C. E., Bolboaca, A. D. ,& Jantschi, L. 2006. Mobile phase optimization for steroid separation .*Medical Informatics*. Volume 18: 17-24.
- Sudjadi. 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Sugiyatno, A. & Yuflospono, E. 2007. Studi pembungaan sepuluh varietas koleksi apel (*Malus sylvestris* Mill.) unggul tropika. Prosiding Seminar Nasional Hortikultura “Pengembangan Produk Hortikultura Unggulan Lokal Melalui Pemberdayaan Petani”. Surakarta: Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Halaman 730-735.
- Suhartono, M.T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: IPB Press.
- Sunarjono, H. 2005. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Supari, F. 1996. *Radikal Bebas dan Potofisiologi Beberapa Penyakit Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler Terhadap Kesehatan Dampak dan Penangkalan*. Jakarta: Pusat Studi Pangan, Gizi IPB dan Kedubes Prancis.
- Suparmia, Khotimah, K., & Fadholi, A. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Apel (*Pyrus malus*, L) Terhadap Penurunan Permeabilitas Vaskuler Pada Mencit Putih Jantan Strain Balb/C. *EKSAKTA*. Volume 14, Nomer 2: 49-61.
- Supratman, U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjajaran.
- Surjowardojo, P., Susilorini T. E., & Benarivo, V. 2016. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Jurnal Ternak Tropika*. Volume 17, Nomer 1: 11-21.
- Suroso, H.C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Tanaman Anting-anting (*Achalypha Indica L.*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan.

Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Svehla, G.1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro EdisiKelima*.Diterjemahkan oleh: Setiono, L., dan Pudjaatmaka, Hadyana. Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka.
- Tahir, I., Wijaya, K., & Widianingsih, D. 2003. Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/Flavonol.*Artikel Seminar Chemometrics- Chemistry*. Yogyakarta: Dept Gadjah Mada University.
- Taroreh, M., Raharjo, S., Hastuti, P., & Murdiati, A. 2015.Ekstraksi Daun Gedi (Abelmoschus manihot L) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya.*Agritech*. Volume 35, Nomer 3: 280-286.
- Underwood, A.L dan Day, R.A. 2002.*Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Untung, O. 1994.*Jenis dan Budidaya Apel*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Utami, S. U. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan N-Heksan Hasil Hidrolisis Ekstrak Methanol Mikroalga Chlorella sp.* UIN Malang.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006.Phenolic Compound Biochemistry.*Springer: The Netherlands*.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S, Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Winarno, F. G., Fardias D., & Fardias S. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*.Bogor :Institut Pertanian Bogor.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. 2003.Antioxidant activity of apple peel.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 51, Nomer 3: 609-14.
- Xu, Z., Peng, R., Chen, X., Ghosh, R., & Rupasinghe, H. P. V. 2017. Isolation of Flavonoids From Apple Peel Using Novel Graphene Oxide Cotton Fiber. *Natural Product Research*. Volume 31, Nomer 21: 2559–2563
- Yamaguchi et al. 2008.Isolation of Ursolic Acid from Apple Peels and Its Specific Efficacy as a Potent Antitumor Agent.*Journal of Health Science*. Volume 54, Nomer 6: 654-660.
- Yuliani, N. N., Sambara, J., & Mau, M. A. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var.

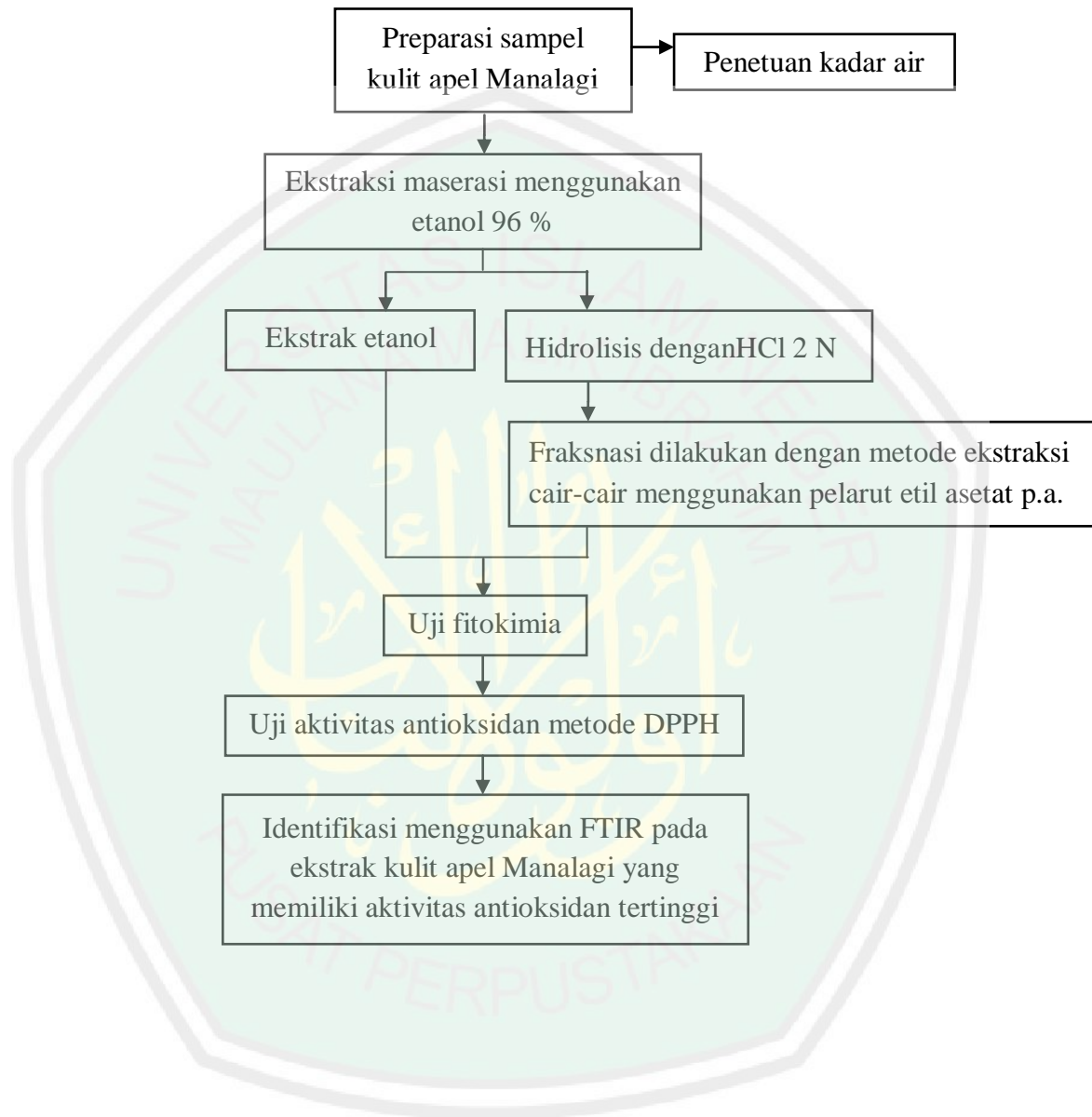
Rubrum) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Jurnal Info Kesehatan*. Volume 14, Nomer 1.

Yulianti, S. & Sitanggang, M. 2006.30 *Ramuan Penakluk Hipertensi*. Edisi 1. Jakarta: Agromedia.



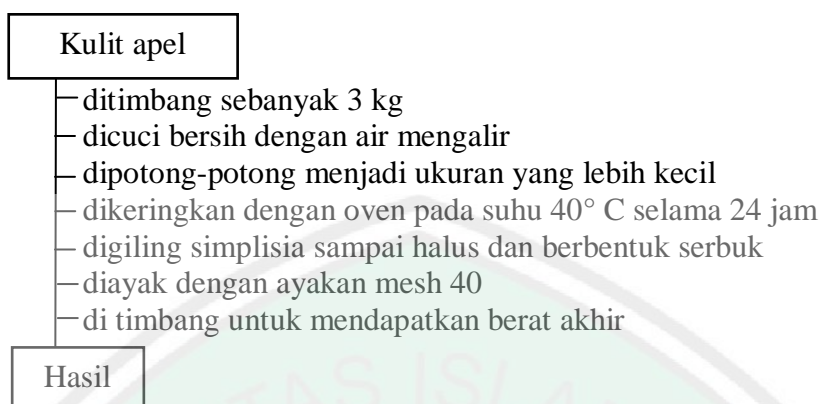
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

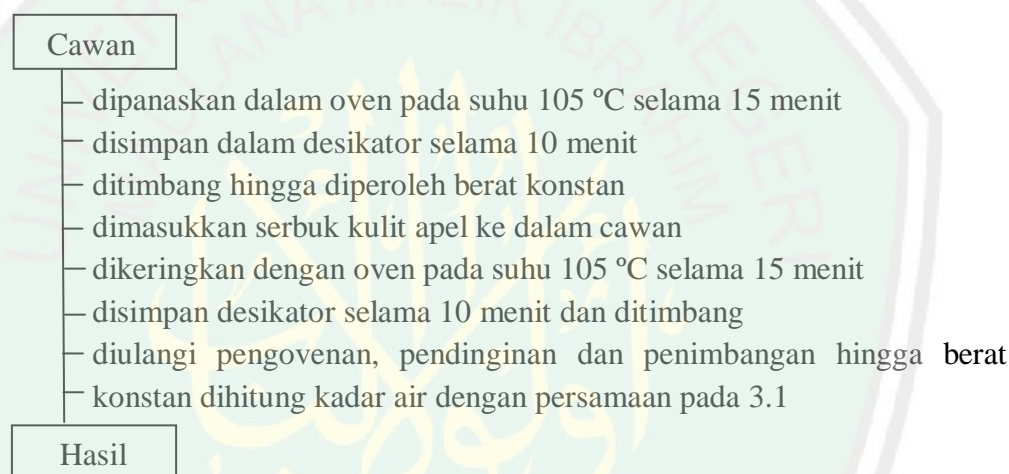


Lampiran 2. Diagram Alir

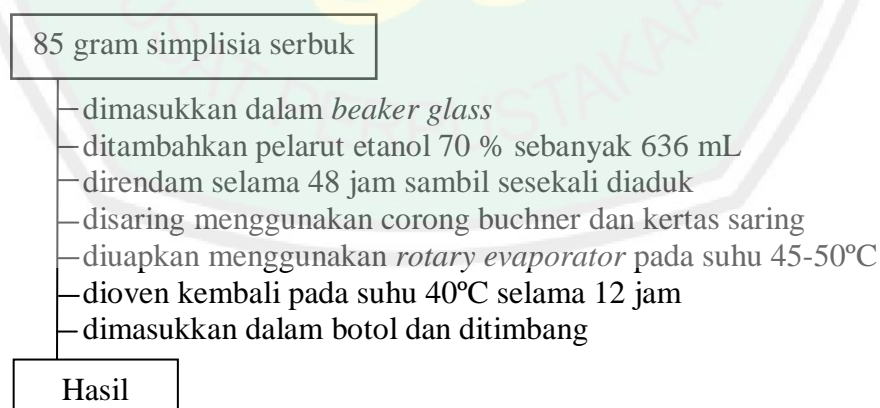
L.2.1 Preparasi Sampel



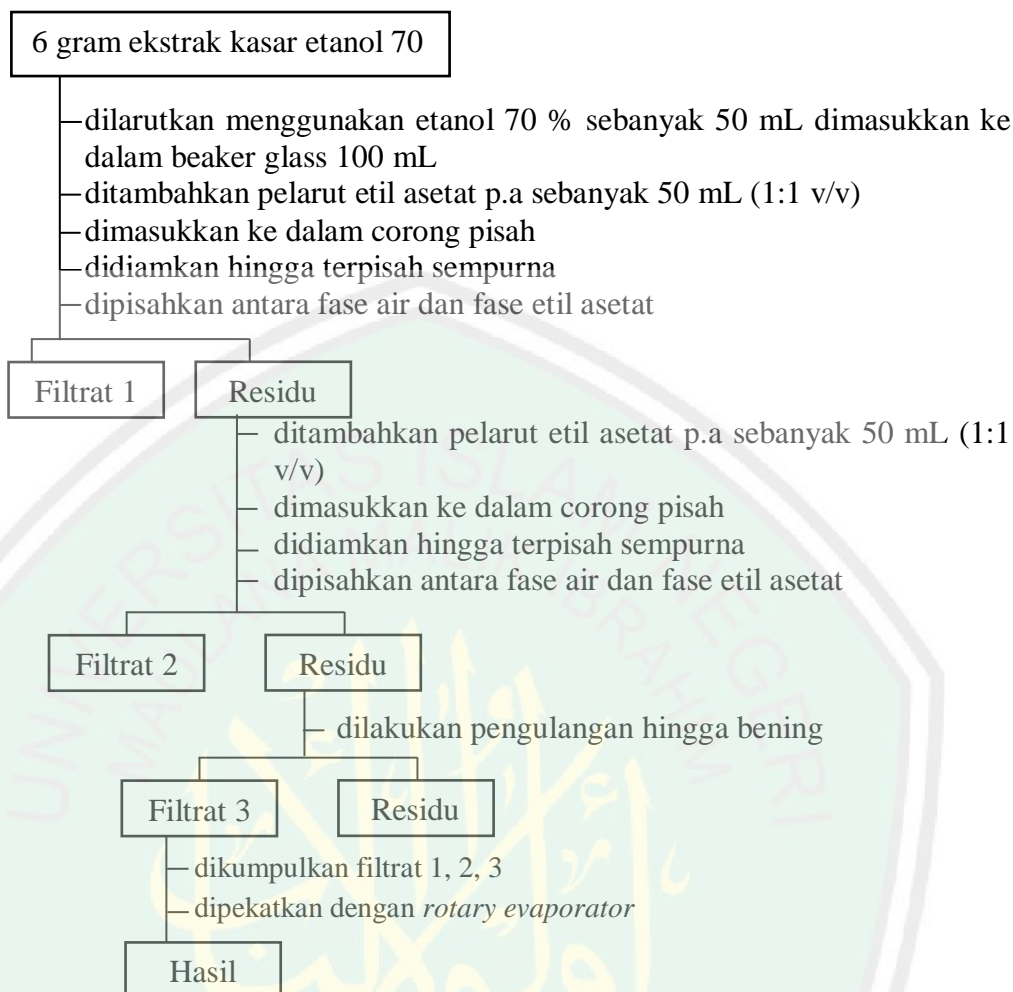
L.2.2 Analisis Kadar Air



L.2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Apel

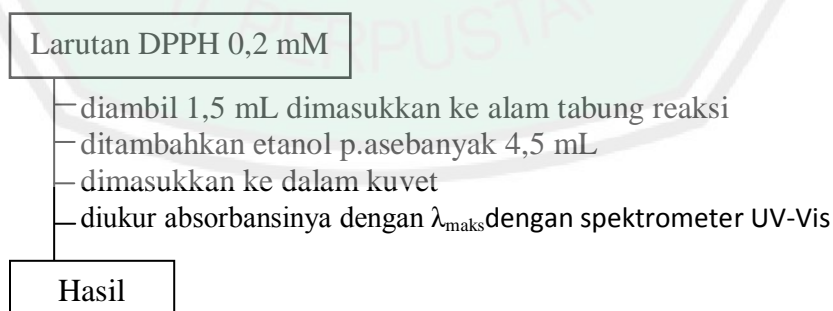


L.2.4 Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Apel



L.2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kulit Apel Menggunakan Metode DPPH

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



- Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak

- diambil 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- dibuat larutan ekstrak 800 ppm sebanyak 25 mL
- diambil sebanyak 4,5 mL
- ditambahkan 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM
- diinkubasi pada suhu 37 °C
- diukur absorbansi pada λ_{maks}
- dicari waktu kestabilan pada rentangan waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit

Hasil

- Pengujian Efektivitas Antioksidan pada Sampel

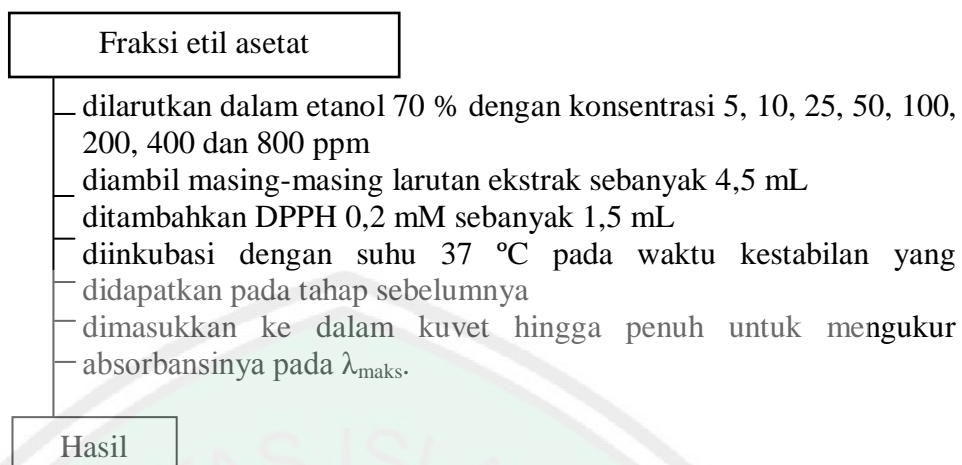
a. Absorbansi Kontrol

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- diambil sebanyak 1,5 mL
- dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan etanol p.a sebanyak 4,5 mL
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya
- dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh
- diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan dengan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

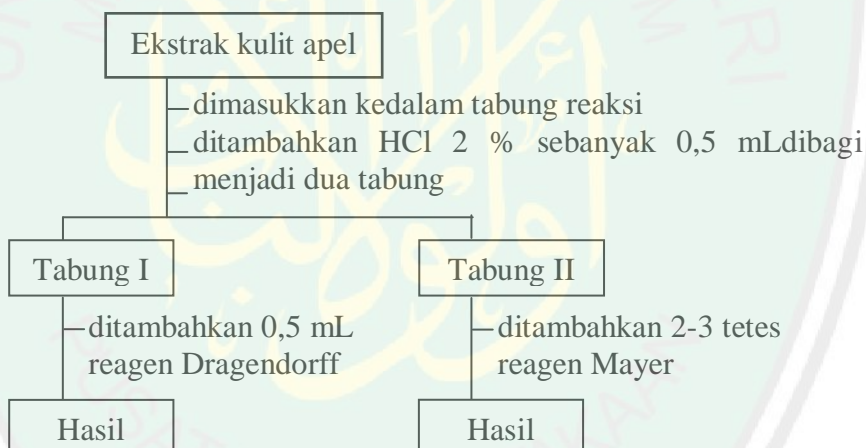
b. Absorbansi Sampel



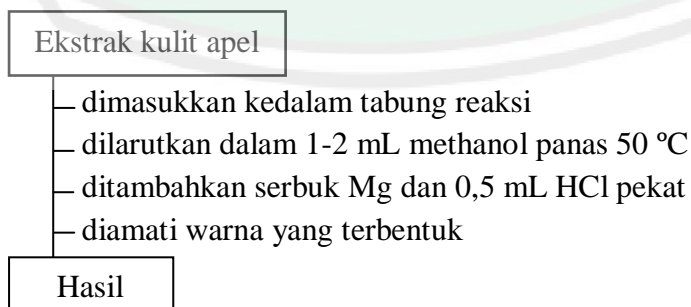
*Pembanding asam askorbat diperlakukan seperti sampel tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat

L.2.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Apel

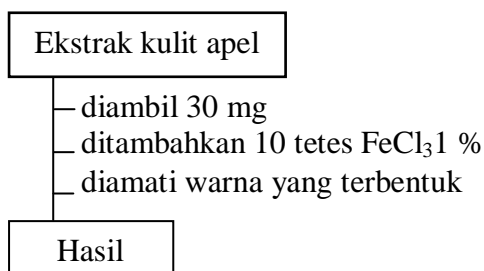
• Uji Alkaloid



• Uji Flavonoid

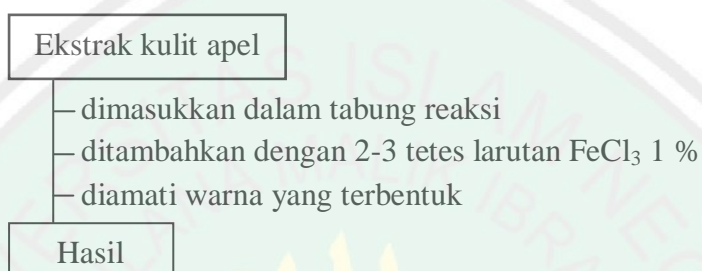


- Uji Fenol

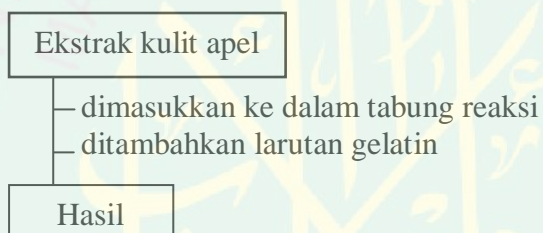


- Uji Tanin

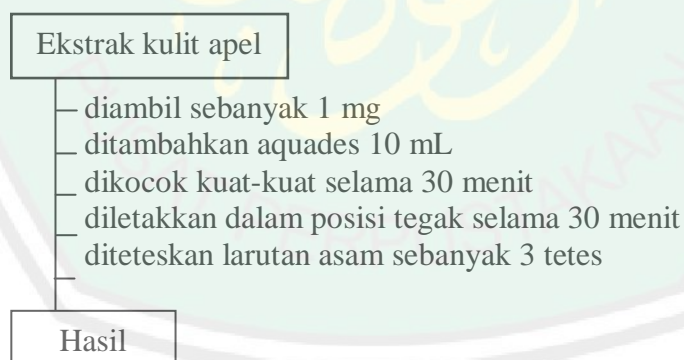
- a. Uji dengan FeCl_3



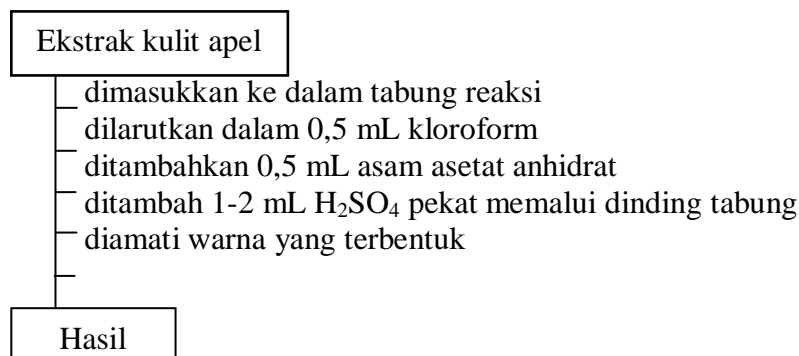
- b. Uji dengan Gelatin



- Uji Saponin



- Uji Steroid dan Triterpenoid



Lampiran 3. Perhitungan Kadar Air

L.3.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Kulit Apel Manalagi

(*Malus sylvestris* Mill.)

| Ulangan Cawan | Berat Cawan Kosong (g) | | | | | | Rata-Rata Berat Konstan |
|---------------|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------------------|
| | Sebelum dioven | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | |
| B1 | 42,646 | 42,645 | 42,644 | 42,644 | 42,644 | 42,644 | 42,644 |
| B2 | 44,091 | 44,090 | 44,090 | 44,089 | 44,089 | 44,089 | 44,089 |
| B3 | 54,265 | 54,264 | 54,263 | 54,263 | 54,262 | 54,262 | 54,263 |

| Ulangan Sampel | Berat Cawan Kosong (g) | | | | | | Rata-Rata Berat Konstan |
|----------------|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------------------|
| | Sebelum dioven | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | |
| B1 | 43,643 | 43,567 | 43,566 | 43,564 | 43,563 | 43,563 | 43,565 |
| B2 | 45,091 | 45,016 | 45,013 | 45,009 | 45,007 | 45,006 | 45,010 |
| B3 | 55,266 | 55,193 | 55,183 | 55,183 | 55,182 | 55,181 | 55,184 |

Keterangan: P = Perlakuan

L.3.2 Perhitungan Kadar Air Sampel Kering

$$\% \text{ kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

Keterangan: a= berat cawan kosong

b= berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c= berat cawan + sampel setelah dikeringkan

1. Ulangan ke-1 (B1)

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(43,643 - 43,565)}{(43,643 - 42,644)} \times 100 \% \\ &= \frac{(0,078)}{(0,999)} \times 100 \% \\ &= 7,808 \% \end{aligned}$$

2. Ulangan ke-2 (B2)

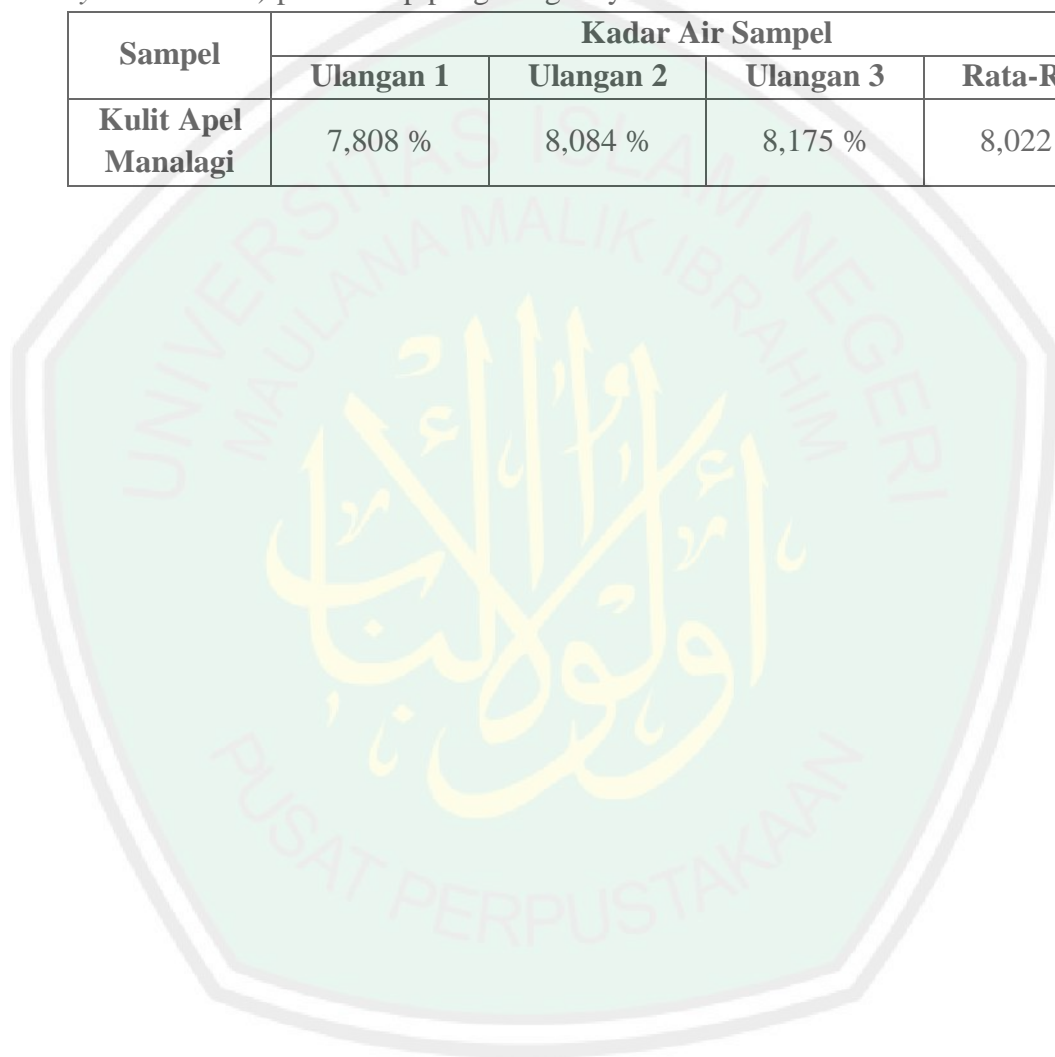
$$\begin{aligned} \% \text{ kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(45,091 - 45,010)}{(45,091 - 44,089)} \times 100 \% \\ &= \frac{(0,081)}{(1,002)} \times 100 \% \\ &= 8,084 \% \end{aligned}$$

3. Ulangan ke-3 (B3)

$$\begin{aligned}
 \% \text{ kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(55,266 - 55,184)}{(55,266 - 54,263)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(0,082)}{(1,003)} \times 100 \% \\
 &= 8,175 \%
 \end{aligned}$$

Kadar air yang terkandung pada sampel kering kulit apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) pada setiap pengulangannya adalah:

| Sampel | Kadar Air Sampel | | | |
|---------------------|------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Rata-Rata |
| Kulit Apel Manalagi | 7,808 % | 8,084 % | 8,175 % | 8,022 % |



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

L.4.1 Rendemen Ekstrak Pekat Etanol 96 %

| Berat sampel (g) | Berat wadah (g) | Berat wadah + ekstrak pekat (g) | Berat ekstrak pekat (g) |
|------------------|-----------------|---------------------------------|-------------------------|
| 100,0268 | 62,6112 | 92,6281 | 30,0169 |

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \\
 &= \frac{30,0169}{100,0268} \times 100 \% \\
 &= 30,0089 \%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Rendemen Fraksi Etil Asetat

| Berat ekstrak etanol yang dihidrolisis (g) | Berat wadah (g) | Berat wadah + ekstrak etil asetat (g) | Berat ekstrak pekat etil asetat (g) |
|--|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 10,0001 | 82,1183 | 84,8522 | 2,7339 |

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \\
 &= \frac{2,7339}{10,0001} \times 100 \% \\
 &= 27,3387 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Pengujian Antioksidan

L.5.1 Vitamin C

| Konsentrasi Sampel (ppm) | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Aktivitas Antioksidan |
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|
| 25 | 0,4319 | 0,0259 | 94,0032 |
| 50 | 0,4319 | 0,0224 | 94,8136 |
| 100 | 0,4321 | 0,0220 | 94,9086 |
| 200 | 0,4317 | 0,0217 | 94,9734 |
| 400 | 0,4319 | 0,0198 | 95,4156 |

Comparison of Fits

Can't calculate

Null hypothesis

Different curve for each data set

Alternative hypothesis

One curve for all data sets

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Models have the same DF

Different curve for each data set

Preferred model

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 -12,21

Hillslope 0,08896

EC50 6,128e-013

Span = 100

Std. Error

LogEC50 3,329

Hillslope 0,02093

95 % CI (profile likelihood)

LogEC50 -54,86 to -6,113

Hillslope 0,0222 to 0,1566

EC50 0 to 7,706e-007

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 3

R square 0,8571

Absolute Sum of Squares 0,1505

Sy.x 0,224

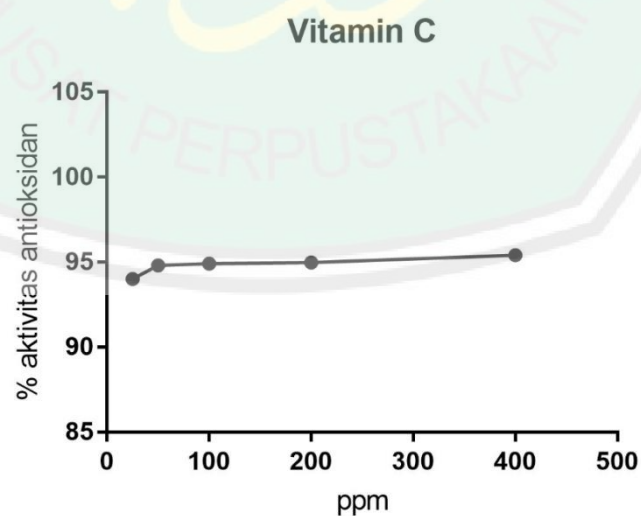
Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

One curve for all data sets

| | | |
|------------------------------|------------------|------------------|
| Best-fit values | | |
| Bottom | = 0 | |
| Top | = 100 | |
| LogEC50 | -12,21 | -12,21 |
| HillSlope | 0,08896 | 0,08896 |
| EC50 | 6,128e-013 | 6,128e-013 |
| Span | = 100 | |
| Std. Error | | |
| LogEC50 | 3,329 | 3,329 |
| HillSlope | 0,02093 | 0,02093 |
| 95 % CI (profile likelihood) | | |
| LogEC50 | -54,86 to -6,113 | -54,86 to -6,113 |
| HillSlope | 0,0222 to 0,1566 | 0,0222 to 0,1566 |
| EC50 | 0 to 7,706e-007 | 0 to 7,706e-007 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R square | 0,8571 | 0,8571 |
| Absolute Sum of Squares | 0,1505 | 0,1505 |
| Sy.x | | 0,224 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 100 | |
| LogEC50 | LogEC50 | is |
| | shared | |
| HillSlope | HillSlope | is |
| | shared | |
| Number of points | | |
| # of X values | 15 | |
| # Y values analyzed | 5 | |



L.5.2 Ekstrak etanol 96 %

| Konsentrasi Sampel (ppm) | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Aktivitas Antioksidan |
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|
| 25 | 0,5988 | 0,5411 | 9,6359 |
| 50 | 0,5992 | 0,5367 | 10,4306 |
| 100 | 0,6000 | 0,5132 | 14,4667 |
| 200 | 0,6027 | 0,4227 | 29,8656 |
| 400 | 0,5982 | 0,3859 | 35,4898 |

Comparison of Fits

Can't calculate

Null hypothesis

Different curve for each data set

Alternative hypothesis

One curve for all data sets

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Models have the same DF

Different curve for each data set

Preferred model

set

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 2,935

HillSlope 0,7121

EC50 861,9

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,1206

HillSlope 0,1186

95 % CI (profile likelihood)

LogEC50 2,671 to 3,657

HillSlope 0,3686 to 1,166

EC50 468,4 to 4542

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 3

R square 0,9427

Absolute Sum of Squares 32,49

Sy.x 3,291

Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

One curve for all data sets

Best-fit values

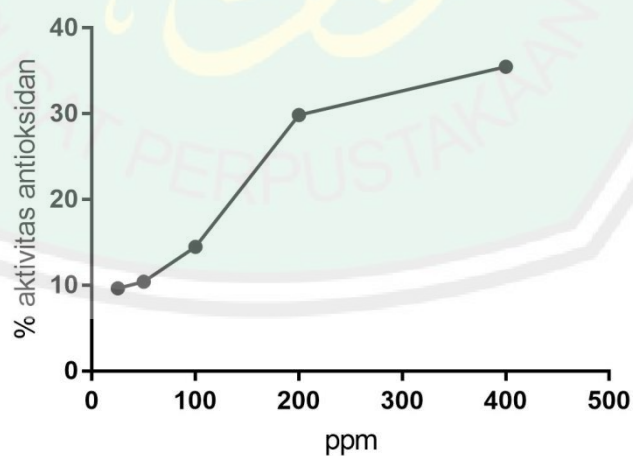
Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 2,935 2,935

| | | |
|------------------------------|-----------------|-----------------|
| HillSlope | 0,7121 | 0,7121 |
| EC50 | 861,9 | 861,9 |
| Span | = 100 | |
| Std. Error | | |
| LogEC50 | 0,1206 | 0,1206 |
| HillSlope | 0,1186 | 0,1186 |
| 95 % CI (profile likelihood) | | |
| LogEC50 | 2,671 to 3,657 | 2,671 to 3,657 |
| HillSlope | 0,3686 to 1,166 | 0,3686 to 1,166 |
| EC50 | 468,4 to 4542 | 468,4 to 4542 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R square | 0,9427 | 0,9427 |
| Absolute Sum of Squares | 32,49 | 32,49 |
| Sy.x | | 3,291 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 100 | |
| LogEC50 | shared | is |
| HillSlope | shared | is |
| Number of points | | |
| # of X values | 15 | |
| # Y values analyzed | 5 | |

Ekstrak Etanol 96% Kulit Apel Manalagi



L.5.3 Fraksi Etil Asetat

| Konsentrasi Sampel (ppm) | Absorbansi Kontrol | Absorbansi Sampel | % Aktivitas Antioksidan |
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------------|

| | | | |
|-----|--------|--------|---------|
| 25 | 0,7091 | 0,6062 | 14,5114 |
| 50 | 0,7080 | 0,4732 | 33,1638 |
| 100 | 0,7081 | 0,3469 | 51,0097 |
| 200 | 0,7086 | 0,0856 | 87,9198 |
| 400 | 0,7087 | 0,0619 | 91,2656 |

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 1,915

HillSlope 1,62

EC50 82,19

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,04217

HillSlope 0,2431

95 % CI (profile likelihood)

LogEC50 1,774 to 2,049

HillSlope 0,9977 to 2,705

EC50 59,48 to 111,9

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 3

R square 0,9761

Absolute Sum of Squares 108

Sy.x 6,001

Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 1,915 1,915

HillSlope 1,62 1,62

EC50 82,19 82,19

Can't calculate

Different curve for each data set

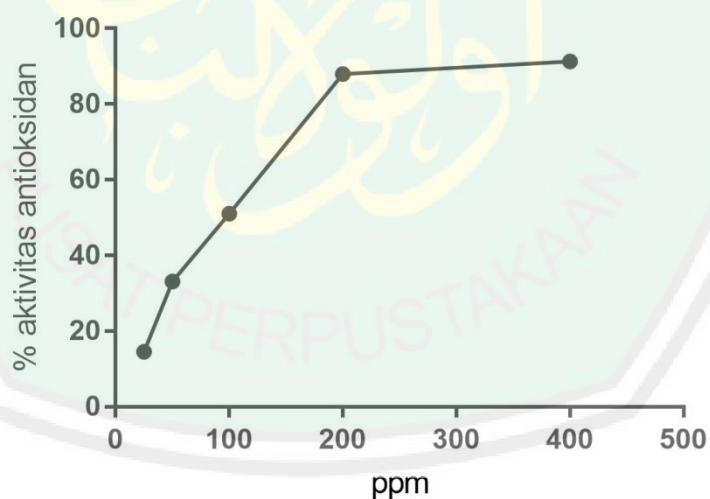
One curve for all data sets

Models have the same DF

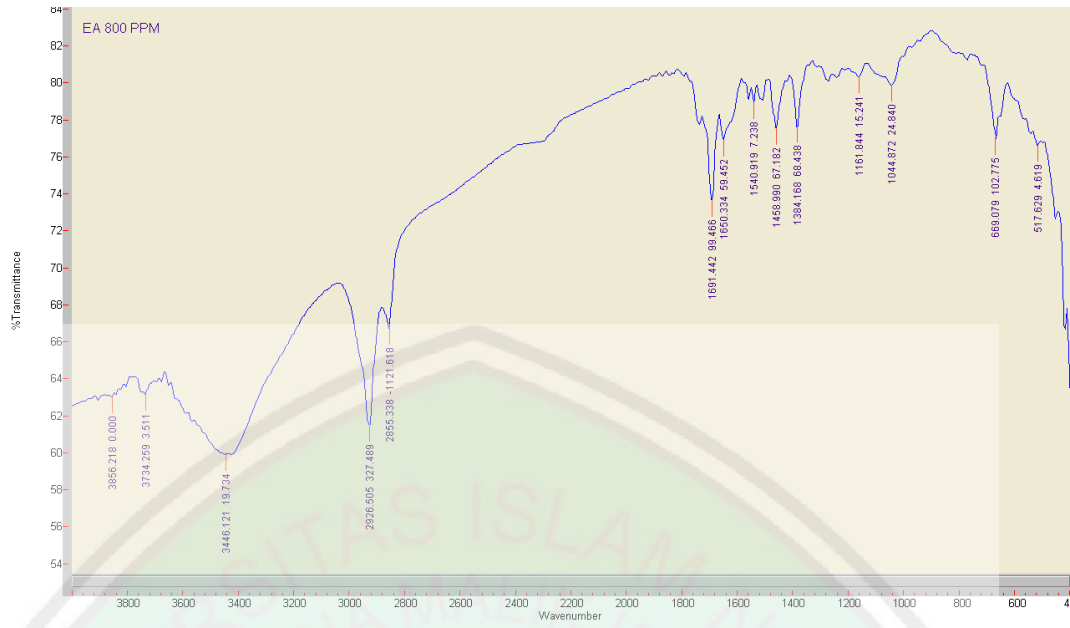
Different curve for each data set

set

| | | |
|------------------------------|-----------------|-----------------|
| Span | = 100 | |
| Std. Error | | |
| LogEC50 | 0,04217 | 0,04217 |
| HillSlope | 0,2431 | 0,2431 |
| 95 % CI (profile likelihood) | | |
| LogEC50 | 1,774 to 2,049 | 1,774 to 2,049 |
| HillSlope | 0,9977 to 2,705 | 0,9977 to 2,705 |
| EC50 | 59,48 to 111,9 | 59,48 to 111,9 |
| Goodness of Fit | | |
| Degrees of Freedom | | 3 |
| R square | 0,9761 | 0,9761 |
| Absolute Sum of Squares | 108 | 108 |
| Sy.x | | 6,001 |
| Constraints | | |
| Bottom | Bottom = 0 | |
| Top | Top = 100 | |
| LogEC50 | shared | is |
| HillSlope | shared | is |
| Number of points | | |
| # of X values | 15 | |
| # Y values analyzed | 5 | |



Lampiran 6. Spektra IR Fraksi Etil Asetat



Lampiran 7. Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan

L.7.1 Pembuatan Larutan Etanol 96 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,98 \% \times V_1 = 96 \% \times 500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 480,096 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan methanol 96 % diambil sebanyak 480,096 mL etanol 99,98 % dan diencerkan dengan aquades hingga volume 500 mL.

L.7.2 Pembuatan Larutan Metanol 50 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,98 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan methanol 50 % diambil sebanyak 5 mL metanol 99,98 % dan diencerkan dengan aquades hingga volume 10 mL.

L.7.3 Pembuatan Larutan HCl 2 N

Densitas : 1,19 g/mL

Konsentrasi: 37 %

Volume : 50 mL

Mr HCl : 36,5 g/mol

2 N~2 M

Molaritas HCl = n × Molaritas HCl

$$= \frac{1 \times 37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

Volume HCl 12,09 N yang diambil untuk membuat larutan HCl 2 N :

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_1}{N_2} = \frac{50 \text{ mL} \times 2 \text{ N}}{12,09} = 8,27 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37 % sebanyak 8,27 mL yang dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 50 mL.

L.7.4 Pembuatan Larutan HCl 2 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10$$

$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 2 % dibutuhkan 0,54 mL HCl 37 % yang dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL.

L.7.5 Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1 \% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1 \% \times 162,2 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}}{22,4} \\ &= 0,72 \text{ g} = 720 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan FeCl₃ 1 % diambil sebanyak 720 mg serbuk FeCl₃, dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 mL.

L.7.6 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol (99 %)

$$\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol DPPH} = 50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 50 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}}$$

$$= 0,01 \text{ mmol}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,01 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,01 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 3,9433 \text{ mg}$$

L.7.7 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

• Pembuatan antioksidan pembanding 800 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$800 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 800 \text{ ppm} \times 0,05 \text{ L} = 40 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan sampel 800 ppm diperlukan 40 mg sampel yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 50 mL.

• Pembuatan Larutan Sampel 400 ppm

$$V_2 = \frac{V_1 \times M_1}{M_2}$$

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 400 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 12,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 400 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 12,5 mL yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 25 mL.

• Pembuatan Larutan Sampel 200 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 6,25 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 200 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 6,25 mL yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 25 mL.

• Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 3,125 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 3,12 mL yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 25 mL.

• **Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm**

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 1,5625 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 1,56 mL yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 25 mL.

• **Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm**

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 0,78125 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 0,78 mL yang dilarutkan dengan etanol 96 % dalam labu ukur 25 mL.

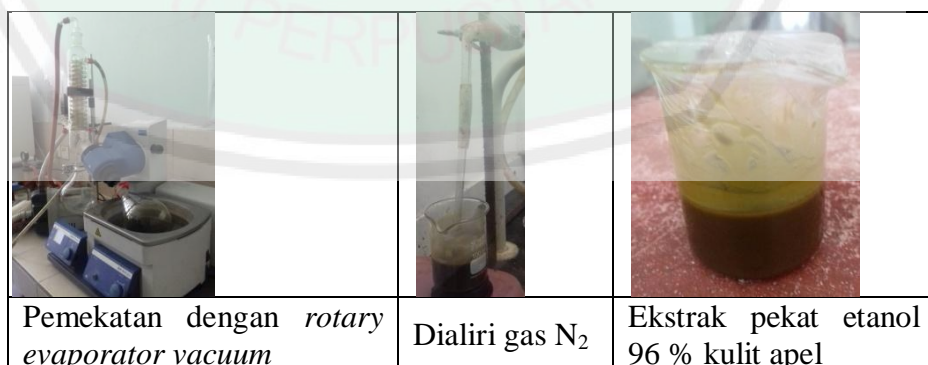
L.8.1 Preparasi Sampel






L.8.2 Analisis Kadar Air





L.8.3 Ekstraksi Maserasi



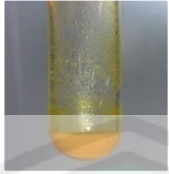
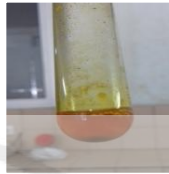
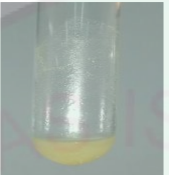

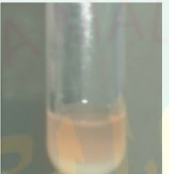
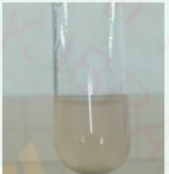



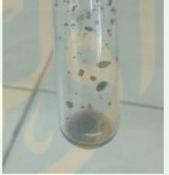
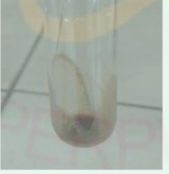
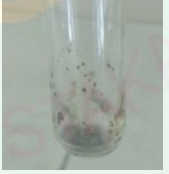


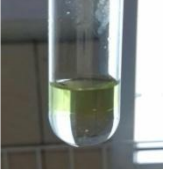
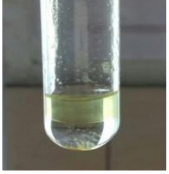
L.8.4 Hidrolisis

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Proses hidrolisis ekstrak dengan HCl 2 N | Penetralan dengan NaHCO_3 | pH 7 netral |

L.8.5 Fraksinasi

| | |
|---|--|
|  |  |
| Fasa air (bawah) Fasa organik (atas) | Ekstrak pekat fraksi etil asetat |

L.8.6 Uji Fitokimia

| Uji | Ekstrak Etanol 96 % | Fraksi Etil Asetat |
|------------------------------------|---|--|
| Alkaloid dengan reagen Dragendorff |  |  |
| Alkaloid dengan reagen Mayer |  |  |
| Flavonoid |  |  |
| Saponin |  |  |
| Fenol |  |  |
| Tanin dengan FeCl ₃ |  |  |
| Tanin dengan gelatin |  |  |
| Steroid dan triterpenoid |  |  |

L.8.7 Uji Aktivitas Antioksidan

