

**UJI TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN BIJI GAYAM (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) MENGGUNAKAN
PELARUT YANG BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh:

ILUL INAYAH

NIM. 15620045



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**UJI TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN BIJI GAYAM (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) MENGGUNAKAN
PELARUT YANG BERBEDA**

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan

dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

ILUL INAYAH

NIM. 15620045

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**UJI TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN BIJI GAYAM (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) MENGGUNAKAN
PELARUT YANG BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh:

ILUL INAYAH

NIM. 15620045

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 13 Desember 2019

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Dr. Evika Sandi Savitri

NIP. 19741018 200312 2 002

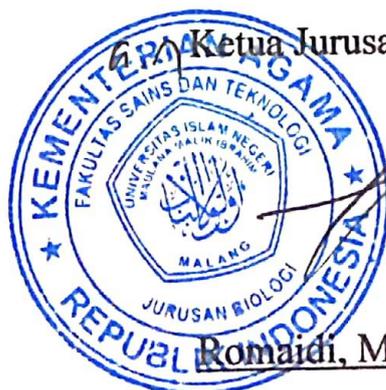


M. Mukhlis Fahrudin, M. S.I

NIPT. 20142011409

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

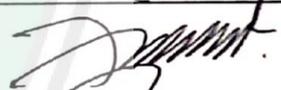
NIP.19810201 200901 1 019

**UJI TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN BIJI GAYAM (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) MENGGUNAKAN
PELARUT YANG BERBEDA**

SKRIPSI

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 14 Desember 2019

Penguji Utama	Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd NIP. 19630114 199903 1 001	
Ketua Penguji	Azizatur Rahmah, M.Sc NIP. 19860930201601082065	
Sekretaris Penguji	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002	
Anggota Penguji	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 20142011409	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romajidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ilul Inayah
NIM : 15620045
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi /Biologi
Judul Penelitian : Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 14 Desember 2019

Yang Membuat Pernyataan



Ilul Inayah

NIM. 15620045

MOTTO

وَإِذَا قَضَىٰ أَمْرًا فَإِنَّمَا يَقُولُ لَهُ كُن فَيَكُونُ

*“Apabila Dia hendak Menetapkan sesuatu, Dia hanya Berkata kepadanya,
“Jadilah!” Maka terjadilah sesuatu itu.” (QS.al-Baqarah: 117)*

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni).

*“Mulailah dari tempatmu berada. Gunakan yang kau punya. Lakukan yang kau
bisa “ (Arthur Ashe)*

HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah, tiada kata terindah selain syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga saya diberikan kesempatan untuk belajar sebagian ilmu-Nya ini. Sholawat serta salam tetap terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW.

Skripsi ini ku persembahkan kepada :

Kedua orang tuaku, Bapak Abdussalam dan Ibu Khoirul Janah yang tiada hentinya memberikan dukungan, motivasi semangat, nasihat, serta do'a yang selalu dihadiahkan untukku disetiap sujud beliau. Serta seluruh keluarga besar yayasan Al-Hamidy yang selalu memberikan motivasi untuk tetap semangat dalam belajar dan menuntut ilmu.

Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk sahabat-sahabatku satu angkatan dan teman seperjuanganku "GENETIST 15" dan Kelas "BIOLOGI B 15" untuk dukungan, do'a serta semangat dalam setiap langkahku menuntut ilmu hingga sampai pada titik ini.

Terimakasih sebanyak-banyaknya pula kepada sahabat-sahabatku satu bimbingan, Chusnul, Izza, fifi, fitrianti, dan intan. Yang selalu ada saat suka maupun duka dan memberikan banyak pelajaran dan bantuan selama penelitian berlangsung, selalu sabar dalam meberikan semangat maupun motivasi kepadaku, sehingga tercapailah pada cita-citaku dapat menyelesaikan skripsi ini.

Teruntuk teman-teman asrama AL-YASINI dan kost khususnya Ria, Lila, Devie, Annisa, Anis yang sama-sama berjuang menyelesaikan skripsi, terimakasih yang sebanyak-banyaknya telah memberikan motivasi, semangat dan membantu selama menempuh pendidikan di Malang, sehingga menjadikanku terhibur dikala mulai lelah dalam berjuang.

Teruntuk teman-teman Kamar ABA 21, PKPBA "C4", dan KKM Kelompok 7 Kec. Pakis terimakasih telah menjadi keluarga kecilku dengan selalu memberikan dukungan dan semangat dalam setiap langkahku menimba ilmu hingga bisa terlewati sampai pada titik ini.

Serta semua pihak yang tak bisa kusebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya atas kita semua. Aamiin Ya Robbal Alamin.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum, Wr.Wb.

Dengan menyebut asma Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, penulis panjatkan segala syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul “ **Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Biji Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda**”. Shalawat serta salam semoga selalu terlimpah curahkan bagi baginda Rasulullah Muhammad SAW. Yang telah membawa cahaya kebenaran bagi umatnya.

Penulis Juga haturkan ucapan terimakasih seiring do'a dan harapan Jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini, sehingga dengan hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si.,D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen Pembimbing utama dan dosen pembimbing agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
5. Dr. Dwi Suheriyanto, S.Si, M.P selaku dosen wali yang senantiasa memberikan motivasi, nasihat dan pengarahan.
6. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Abdussalam dan Ibu Khoirul Janah serta keluarga besar yayasan Al-Hamidy yang senantiasa memberikan kasih

sayang, do'a, serta dorongan semangat menuntut ilmu kepada penulis selama ini.

8. Laboran dan Staff administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Teman-teman Biologi angkatan 2015 terimakasih atas kerjasama, semua dukungan, motivasi, serta bantuannya selama menempuh studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang telah memberikan banyak pemikiran hingga terselesaikannya skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Tiada balasan yang dapat penulis berikan selain do'a *Jazakumullahu khoiron Katsiraa*, semoga Allah menerima amal baik mereka semua dan memberikan imbalan yang lebih atas segala jerih payahnya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat meberikan manfaat dan menambah khazanah Ilmu Pengetahuan bagi penulis khususnya dan bagi para pembacanya. *Aamiin Ya Robbal Alamin*.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tumbuhan Menurut Perspektif Islam.....	8
2.2 Tumbuhan Gayam (<i>Inocarpus fagiferus</i> (Park.) Forst).....	11
2.2.1 Morfologi Gayam (<i>I.fagiferus</i> (Park.) Forst)	12
2.2.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Gayam	13
2.3 Jenis dan Sifat Pelarut	14
2.4 Ekstraksi Metode Maserasi	17
2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan	19
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	22
2.7 Kandungan Metabolit Sekunder	25

2.7.1 Alkaloid	25
2.7.2 Flavonoid	26
2.7.3 Tanin	27
2.7.4 Saponin	28
2.7.5 Triterpenoid	29
2.7.6 Steroid	30
2.8 Analisis Kadar Total Flavonoid	30
2.9 Spektrofotometer UV-Vis	32
BAB III METODE PENELITIAN	34
3.1 Jenis Penelitian	34
3.2 Waktu dan Tempat	34
3.3 Alat dan Bahan	34
3.3.1 Alat	34
3.3.2 Bahan	35
3.4 Pelaksanaan Penelitian	35
3.4.1 Determinasi Tanaman	35
3.4.2 Preparasi Sampel	35
3.4.3 Pengukuran Kadar Air Simplisia	36
3.4.4 Pembuatan Ekstrak dengan Maserasi	36
3.4.5 Uji Fitokimia	37
3.4.6 Analisis Total Kadar Flavonoid	38
3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Gayam dengan Metode DPPH	39
3.4.8 Pembuatan Larutan Asam Askorbat	41
3.5 Teknik Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1 Analisis Total Flavonoid	43
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Gayam	48
4.3 Hubungan Antara Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan	55
4.4 Dialog Hasil Penelitian Berdasarkan Perspektif Islam	57

BAB V PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	67



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tumbuhan Gayam	12
Gambar 2.2 Struktur Kimia Etanol	16
Gambar 2.3 Struktur Kimia Metanol	16
Gambar 2.4 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan	23
Gambar 2.5 Struktur Kimia Alkaloid	26
Gambar 2.6 Struktur Kimia Flavonoid	27
Gambar 2.7 Struktur Kimia Tanin	28
Gambar 2.8 Struktur Kimia Saponin	29
Gambar 2.9 Struktur Kimia Triterpenoid	29
Gambar 2.10 Struktur Kimia Steroid	30
Gambar 4.1 Kurva Kalibrasi Kuersetin	44
Gambar 4.2 Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Estrak daun dan Biji Gayam Dengan Asam Askorbat	52
Gambar 4.3 Hubungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Konstanta Dielektrikum Pelarut Organik	15
Tabel 2.2 Sifat Antioksidan Berdasarkan Nilai IC ₅₀	24
Tabel 4.1 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Gayam	45
Tabel 4.2 Hasil IC ₅₀ Ekstrak Daun dan Biji Gayam menggunakan pelarut Metanol 96% dan Etanol%	50
Tabel 4.3 Nilai IC ₅₀ Ekstrak Gayam dan Asam Askorbat	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	67
Lampiran 2. Determinasi Tanaman.....	68
Lampiran 3. Analisis Kadar Air, Rendemen dan Uji Fitokimia	69
Lampiran 4. Pengukuran absorbansi larutan standar dan kurva baku kuersetin....	70
Lampiran 5. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan	76
Lampiran 6. Data Absorbansi Antioksidan Dan Asam Askorbat	78
Lampiran 7. Dokumentasi Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH	81



Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda

Ilul Inayah, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRAK

Inocarpus fagiferus (Park.) Forst merupakan tumbuhan yang berasal dari Indonesia, senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman gayam antara lain flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dalam mereduksi radikal bebas berdasarkan jumlah gugus hidroksil pada struktur molekulnya. Senyawa antioksidan tersebut akan bereaksi dengan radikal bebas pada DPPH, aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh. Tujuannya untuk mengetahui berapa kadar total flavonoid dalam ekstrak daun dan biji *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol 96% serta aktivitas antioksidannya. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif analisis kadar total flavonoid ekstrak daun dan biji *I. fagiferus* (Park.) Forst menggunakan pelarut metanol 96% dan etanol 96% dan penentuan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. Hasil penelitian menunjukkan kadar total flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol 96% daun *Inocarpus fagiferus* Park. Forst. sebesar 3,2894 mg QE/g ekstrak dengan nilai aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 7 µg/mL.

Kata Kunci: Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan, Daun dan Biji Gayam

**Total Flavonoid Test and Antioxidant Activity Of Gayam Leaf and Seed Extract
(*Inocarpus fagiferus* Park. Forst.) Using Different Solvents**

Ilul Inayah, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRACT

Inocarpus fagiferus (Park.) Forst is a plant originating from indonesia, secondary metabolite compounds contained in the gayam plant include flavonoid which have the potential as antioxidants in reducing free radicals based on the number of hydroxyl groups in their molecular structure. These antioxidant compounds will react with the free radicals on DPPH, antioxidant activity is determined based on the IC50 value obtained. The aim is to find out the total levels of flavonoids in gayam extract using ethanol 96% and methanol 96% as how about their antioxidant activity. Research method conducted include analysis of total flavonoid levels using a spectrophotometer UV-Vis, the method of determining antioxidant activity using DPPH. The result showed the highest levels of total flavonoid in ethanol 96% extract of the leaves of *Inocarpus fagiferus* park. Forst. Of 3,2894 mg QE/g extract with the highest antioxidant activity value of 7 ug/mL.

Keywords: Total Flavonoid, Antioxidant Activity, Leaf and Seed of Gayam

**اختبار اجمالية الفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة لاستخراج أوراق وبذور غيام (*Inocarpus fagiferus* Park.)
(Forst.) باستخدام مذيبات مختلفة**

ايلول العناية، إيفيكا سندي سافترى، محمد مخلص فخر الدين

ملخص البحث

اما (*Inocarpus fagiferus* Park.Forst.) هي واحدة من نباتات الذى ينشأ من إندونيسيا، وتشمل مركبات الثانوية الموجودة في نبات غيام مركبات الفلافونويد التي لها إمكانية كمضادات أكسدة في تقليل الجذور الحرة وفقا لعدد مجموعات الهيدروكسيل في تركيبها الجزيئي. سوف تتفاعل هذه المركبات المضادات للأكسدة مع الجذور الحرة على DPPH ، وحدد نشاط مضادات الأكسدة على أساس قيمة IC₅₀ . الاهداف هذا البحث هي معرفة المستوي الإجمالية الفلافونويد في استخراج أوراق وبذور *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst باستخدام إيثانول 96% وميثانول 96% و نشاطها المضاد للأكسدة. هذا البحث هو دراسة وصفية وكمية وتحليل مستوي اجمالية الفلافونويد لاستخراج أوراق وبذور (*Inocarpus fagiferus* Park.Forst.). باستخدام إيثانول 96% وميثانول 96% وتحديد نشاط مضاد للأكسدة هو باستخدام DPPH دلت النتائج البحث أعلى مستوي إجمالية الفلافونويد في استخراج الإيثانول 96% لأوراق *Inocarpus fagiferus* Park. Forst. بقدره 3.2894 ميل غرام QE / غ لاستخراج مع أعلى قيمة النشاط المضادة للأكسدة بقدره 7 ميكروغرام/ميل غرام (µg/mL)

الكلمات الرئيسية: مجموع الفلافونويد، نشاط مضادات الأكسدة ، أوراق وبذور غيام



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara dengan berbagai macam keanekaragaman tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Keanekaragaman hayati yang melimpah berpotensi dalam penyediaan kebutuhan sumber daya manusia yaitu sebagai bahan baku dalam pembuatan obat tradisional (Wijayakusuma, 2000).

Dalam Qs. As-Syu'ara/26 : (7)

أَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Qs. As-Syu'ara/26 : 7).

Kata “*ila*” yang terdapat dalam awal surah As-Syu'ara ayat 7 “*awalam yara ila al-ardh*” yang berarti mengajak kepada manusia untuk berfikir dalam hal ciptaan Allah yang ada di bumi, diantaranya hamparan tanah yang luas membentang dengan keanekaragaman tumbuhannya (Shihab, 2002). Ayat tersebut, memerintahkan kepada manusia untuk mengamati serta mempelajari ciptaan-Nya yang ada di bumi, baik hewan, tumbuhan bahkan sesamanya dilangit maupun di bumi, karena dalam penciptaan segala sesuatu tersebut dapat dimanfaatkan penciptaannya. Semua yang Allah ciptakan memiliki manfaat bahkan ada beberapa diantaranya yang belum pernah diketahui manfaatnya oleh manusia. Ayat tersebut menunjukkan pula diantaranya penciptaan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik, dan pada penciptaannya Allah menunjukkan tanda dari kebesaran-Nya.

Tumbuh-tumbuhan diciptakan untuk diteliti dan dimanfaatkan oleh manusia, salah satunya dinegara beriklim tropis seperti di Indonesia. Keanekaragaman hayati yang tinggi terutama tumbuhan lokal tersebut menghasilkan keanekaragaman kimiawi yang tinggi pula, yang dapat dimanfaatkan oleh manusia maupun organisme lain diantaranya pemanfaatan sebagai obat-obatan alami, pakan ternak, kebutuhan industri dan lain sebagainya. Kebutuhan manusia terhadap dunia kesehatan maupun kedokteran menyatakan bahwa saat ini salah satu penyebab penyakit terbesar adalah penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas yang berasal dari reaksi oksidasi berlebih dalam tubuh. (Subiyandono, 2011).

Radikal bebas menuntut tubuh untuk lebih aktif menekan paparan dari radikal bebas tersebut. Secara alami tubuh manusia mampu menangkal paparan radikal bebas melalui sistem kekebalan yang dimilikinya (Lestari, 2018). Hanya saja untuk membantu tubuh dalam menekan paparan radikal tersebut maka diperlukan lebih banyak tambahan antioksidan dari luar. Menurut Felmer (2015) salah satu sumber antioksidan alami dapat diperoleh melalui tumbuhan. Senyawa kimia pada tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat alami tradisional berpotensi dalam mempengaruhi kinerja sel-sel hidup suatu organisme yang disebabkan oleh tingginya aktivitas biologis yang terkandung dalam bagian tumbuhan yang digunakan, baik akar, batang, daun maupun bunga.

Tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami diantaranya adalah gayam (Lestari, 2018). Tumbuhan gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) merupakan tumbuhan liar yang berasal dari Indonesia, mampu tumbuh di tanah-tanah yang mengandung sedikit unsur hara sekalipun. Hingga saat ini tanaman gayam belum dibudidayakan secara baik oleh masyarakat sehingga

tanaman ini dikategorikan sebagai tumbuhan langka (Litbang Deptan, 2007). Selain itu penelitian gayam di Indonesia belum banyak orang yang melakukan karena dinilai tanaman ini tidak memiliki nilai ekonomi, akan tetapi tumbuhan ini dapat digunakan sebagai bahan pangan alternatif dan bahan obat tradisional, untuk mengobati disentri dan infeksi saluran kencing (Segatri dalam Sukadana, 2017).

Tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid yang berpotensi sebagai antimikrobal, antibakteri, analgesik, antihipertensi, dan antioksidan pada uji DPPH (Heyne, 1987). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman gayam meliputi flavonoid, triterpenoid, fenol, steroid dan tanin. Menurut Lestari (2018) ekstrak etanol dan metanol pada bagian daun gayam diketahui positif mengandung senyawa fenol, senyawa fenol yang banyak terdistribusi dibagian daun ini memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} 50-100 mg/L menunjukkan intensitas antioksidan kuat, dengan uji menggunakan DPPH. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gagola (2004) bahwa senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan, adanya gugus fenolik dalam senyawa tersebut berpotensi untuk mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut bersifat tidak reaktif.

I. fagiferus (Park.) Forst. dapat digunakan sebagai sumber antioksidan, Senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan diantaranya adalah senyawa flavonoid (Dewi *et al.*, 2014). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang paling umum ditemukan pada bagian tumbuhan dengan inti terdiri dari 15 atom karbon yang tersusun atas dua cincin gugus benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon. Flavonoid terdapat pada semua tumbuhan, umumnya terikat dengan gula sebagai

glikosida (Sovia, 2006). Flavonoid mempunyai kemampuan dalam menghambat terjadinya oksidasi lipid dan berpotensi terhadap senyawa antioksidan dengan cara mereduksi radikal bebas berdasarkan jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulnya, mencegah terjadinya oksidatif, enzim hidrolisis serta dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi. (Banjarnahor, 2014). Flavonoid termasuk senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang larut dalam pelarut polar (Markham, 1988) sehingga dalam penelitian ini digunakan pelarut yang memiliki sifat yang dapat melarutkan atau mengikat senyawa yang bersifat polar pada tumbuhan, salah satunya adalah golongan polifenol (Guenther, 1987). Menurut Ghazemzadeh (2011) kadar total fenol dan flavonoid berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang diperoleh. Berdasarkan uji yang dilakukan pada ekstrak metanol kulit buah kakao menggunakan metode DPPH diketahui memberikan nilai IC_{50} berdasarkan adanya hubungan antara total flavonoid dengan persentase peredaman radikal bebas rata-rata, yaitu diperoleh total flavonoid nya sebesar 0,2371% menghasilkan aktivitas antioksidan sebanyak 57,42%, nilai IC_{50} 50-100 ppm menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai efektivitas penghambat radikal yang kuat (Krisna, 2014).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, menyatakan bahwa senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan *I. fagiferus* (Park.) Forst. tersebar diseluruh bagian tumbuhan. Santi (2000) mengungkapkan bahwa pada bagian kulit batang tanaman *I. fagiferus* (Park.) Forst. terdapat kandungan senyawa golongan triterpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antibakteri, serta senyawa golongan steroid dengan aktivitas antioksidan terhadap DPPH (Aditya, 2011). Anastasia (2015) telah menguji senyawa fenol pada kulit pohon gayam menggunakan ekstraksi

etanol yang dapat mengikat atau memisahkan senyawa fenol yang bersifat polar. Dengan demikian diduga pada bagian lain yaitu daun dan biji tanaman gayam juga akan diperoleh kandungan metabolit sekunder dengan aktivitas antioksidan yang tinggi menggunakan metode uji aktivitas antioksidan berupa DPPH.

Metode uji dalam menghambat radikal bebas salah satunya *1,1-diphenyl-3-picrylhydrazil* yang dikenal dengan DPPH. Metode DPPH dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat serta reaksinya dengan antioksidan memiliki kemiripan dengan reaksi radikal bebas dalam tubuh (Aprilianty, 2013). Senyawa antioksidan tersebut akan bereaksi dengan radikal DPPH dengan cara donor atom hidrogen dan menyebabkan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Pemilihan metode berdasarkan kemampuan sensitivitasnya dalam menganalisa sampel dengan konsentrasi kecil, sederhana, mudah, cepat, dan stabil pada suhu ruang (Karadag, 2009). Untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada metode DPPH yaitu ditentukan kemampuannya dalam menghambat radikal bebas berupa IC_{50} yang menunjukkan kemampuan antioksidan dalam menghambat 50% aktivitas radikal bebas DPPH (Fitriana *et al.*, 2015).

Jenis senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan dari tumbuhan gayam *I. fagiferus* (Park.) Forst tersebut diduga tersebar diseluruh bagian tumbuhan. Setiap bagian tumbuhan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda, sehingga perlu diketahui perbedaan antara satu dengan yang lainnya. Diantaranya bagian daun dan biji, menurut lestari (2018) senyawa metabolit sekunder banyak terdistribusi dibagian daun, kulit batang dan biji. Menurut Pourmorad (2006) senyawa golongan polifenol merupakan senyawa

yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan, yang diketahui berpotensi sebagai penghambat radikal bebas dengan aktivitasnya sebagai antioksidan sehingga perlu dilakukan perhitungan kadar total flavonoid pada ekstrak untuk menentukan jumlah flavonoid pada ekstrak. Senyawa flavonoid termasuk senyawa polar dengan gugus hidroksil yang larut dalam polar (Markham, 1988) Dalam penelitian ini digunakan pelarut yang dapat melarutkan atau mengikat senyawa yang bersifat polar sehingga dapat diketahui pelarut terbaik yang dapat melarutkan atau mengikat senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan tersebut pada masing-masing bagian tumbuhan. Oleh karena itu dapat diketahui bagian tumbuhan mana yang memiliki kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tinggi menggunakan pelarut yang terbaik hal ini membedakan penelitian ini dengan sebelumnya. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian mengenai **Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Parkinson) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda** perlu dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan dari latar belakang tersebut adalah sebagai berikut:

1. Berapa kadar flavonoid total dalam ekstrak daun dan biji gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) dengan menggunakan pelarut yang berbeda ?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak daun dan biji gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) dengan menggunakan pelarut yang berbeda ?

1.3 Tujuan

Penelitian ini dilakukan berdasarkan tujuan sebagai berikut:

1. Menganalisis kadar flavonoid total dalam ekstrak daun dan biji gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) dengan menggunakan pelarut yang berbeda.
2. Menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak daun dan biji gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) dengan menggunakan pelarut yang berbeda.

1.4 Manfaat

Dilakukannya penelitian tersebut diperlukan untuk menambah informasi mengenai tumbuhan gayam didasarkan pada hasil total flavonoid dan uji potensi kandungan senyawa aktif sebagai antioksidan tumbuhan gayam di daerah Kanigoro, Pasuruan Jawa Timur. Yang nantinya digunakan untuk dasar-dasar dalam pemanfaatan ilmu biologi maupun bidang kesehatan dalam hal pemanfaatan tanaman lokal.

1.5 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah yang diperoleh yaitu:

1. Bagian yang digunakan yaitu daun dan biji tumbuhan *I. fagiferus* (Park.) Forst. yang tumbuh di Desa Kanigoro, Pasuruan Jawa Timur.
2. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dan metanol 96%.
3. Metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan adalah DPPH.
4. Analisis senyawa aktif menggunakan uji fitokimia.
5. Analisis kadar total flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Menurut Perspektif Pandangan Islam

Tumbuhan gayam memiliki bermacam-macam khasiat dan digunakan sebagai bahan obat. Pemanfaatan tumbuhan obat dalam perspektif islam dijelaskan dalam firman Allah SWT, penciptaan makhluk seperti hewan, manusia dan tumbuh-tumbuhan memiliki hikmah yang sangat besar, yaitu segala hal yang diciptakan berguna untuk diambil manfaat yang seluas-luasnya oleh manusia (Farooqi, 2005).

Salah satu makhluk ciptaan Allah yang adalah tumbuhan. Tumbuhan sebagai makhluk hidup memiliki kemampuan untuk tumbuh, hidup, memiliki bagian berupa batang, daun dan akar. Hampir semua bagian tumbuhan dapat diambil manfaatnya, diantaranya sebagai bahan obat herbal. Sebagaimana telah disebutkan dalam surah Luqman ayat 10 :

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسِيًّا أَن تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dialah Allah yang menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (diper 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).

Lafadz “karim” diakhir ayat mengandung arti penggambaran segala sesuatu yang memiliki sifat baik, dan tumbuh-tumbuhan yang baik itu ialah yang dapat tumbuh subur dan dapat dimanfaatkan, ditumbuhkan berbagai macam jenis

tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya, sebagaimana Allah SWT telah menjadikan sesuatu di bumi termasuk tumbuh-tumbuhan salah satunya untuk dimanfaatkan oleh manusia, sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW.

Artinya : “ telah menceritakan kepada kami Muhammad telah mengabarkan kepada kami sufyan dari atha’ yakni ibnu As-Sa’ib dari Abdurrahman dari Abdullah ia berkata, Rasulullah SAW bersabda “ Allah Azza wa Jalla tidak menurunkan penyakit melainkan Dia turunkan pula penawarnya, yang diketahui maupun yang tidak”. (HR. Ahmad).

Hadits tersebut menjelaskan Allah menurunkan suatu penyakit tapi juga disertai penawarnya (obat), dengan ilmu manusia akan dituntun untuk dapat mengkaji diantara ciptaan-Nya yang berpotensi dalam pembuatan obat-obatan, diantaranya tumbuhan. Setiap tumbuhan yang ditumbuhkan oleh Allah memiliki bentuk dan susunan serta manfaat yang berbeda-beda. Diantara tumbuhan tersebut yaitu tumbuhan gayam. Gayam merupakan tumbuhan lokal Indonesia, bagian akar dan daun gayam memiliki berbagai kandungan obat yang digunakan untuk menghentikan pendarahan internal dan nyeri tulang (Latadaya dan Mylene, 2016). Selain itu dapat pula digunakan untuk mengobati disentri dan analgesik (Segatri dalam sukadana, 2017). Sebagaimana dijelaskan dalam Hadits tersebut bahwa “tidak diturunkannya penyakit melainkan diturunkan pula penawar (obat) nya” dari hadits tersebut dapat dijadikan landasan sebagai bentuk pengetahuan untuk mengemukakan hal baru terutama potensi tanaman lokal sebagai bahan pengobatan alami.

Tumbuhan yang beranekaragam serta dapat dimanfaatkan di bumi, menyebabkan manusia memiliki peran dalam menjaga dan melestarikan ciptaan Allah tersebut utamanya tumbuhan yang tumbuh disekitar. Manusia dituntut untuk mengemban amanah dengan sebaik mungkin karena manusia telah dibekali akal

fikiran oleh Allah SWT. Hal ini berikatan dengan peran manusia sebagai khalifah dimuka bumi yaitu bertugas dalam menjaga serta melestarikan dan bertindak dengan berdasarkan etika dan nilai-nilai keislaman. Terutama dalam memanfaatkan ciptaan-ciptaan Allah, diantaranya anadalah tumbuhan. Dalam Qs. Ali Imran ayat 99 yang menjelaskan bahwa “ *Allah menciptakan segala sesuatu dimuka bumi ini tidak ada yang sia-sia*”. Ini menunjukkan bahwa ciptaan Allah memiliki banyak potensi yang belum banyak diketahui secara keseluruhan, salah satunya tumbuhan yang dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan obat. Kemajuan teknologi dan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan, manusia mampu menemukan kandungan tertentu dan tumbuhan tersebut yang dapat mendatangkan manfaat bagi kehidupan manusia yaitu metabolit sekunder yang memiliki peran penting dibidang kesehatan. Hubungan yang terjadi merupakan perwujudan antara hubungan manusia yang berperan sebagai khalifah dengan Allah SWT sebagai pencipta.

Manusia yang berperan sebagai khalifah dituntut untuk berfikir dan meneliti, berperilaku sebagai ilmuwan islam yang berdasarkan aturan dan tatakrama. Peneliti (ilmuwan) mampu menggunakan tanaman yang digunakan sebagai bahan penelitian, karena setiap makhluk hidup dibumi mempunyai hak terhadap sumberdaya yang tersedia dibumi. Tanaman merupakan makhluk ciptaan Allah SWT diciptakan dari air yang diturunkan dari langit kemudian tumbuh, dan darinyalah manusia dapat mengambil banyak manfaat untuk kebutuhan hidupnya, sebagai bahan kebutuhan pokok atau dalam hal pengobatan alami. Maka sudah menjadi tugas manusia dalam melestarikan dan menjaganya sebagai sebuah kearifan lokal (*local wisdom*) bagi manusia itu sendiri. Hampir semua masyarakat

didaerah masing-masing memiliki beberapa jenis tanaman yang dikenal sebagai tanaman obat. Hal ini menunjukkan kekuasaan Allah terhadap upaya manusia dalam menyembuhkan suatu penyakit melalui obat berupa tumbuhan yang dikaruniakan kepadanya. Karena tumbuhan merupakan ciptaan Allah yang ditumbuhkannya dari setetes air yang diturunkan dari langit, maka sudah sepatutnya manusia menjaga dan melestarikannya sebab tumbuhan tersebut dapat digunakan manusia sebagai sumber obat.

2.2 Tumbuhan Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.)

Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) merupakan tumbuhan asli yang berasal dari negara Indonesia dan kemudian tersebar luas ke negara lain beriklim tropis di Asia Pasifik. Tanaman ini dapat hidup pada 0-800 m di atas permukaan laut. Tumbuhan gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) merupakan tumbuhan yang hidup secara liar, di rawa serta dikenal dengan nama yang berbeda-beda dimasing-masing daerah yang ada di Indonesia. Di daerah manado tumbuhan gayam dikenal dengan nama “banyak, bosua dan pendaraan boheng”. Di daerah maluku dan sunda dikenal dengan nama “gayam”, sedangkan di daerah bali dikenal dengan sebutan “gatep” (Heyne, 1987).

Adapun klasifikasi tumbuhan gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) ini yaitu : (Cronquist, 1981)

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida

Subclass : Rosidae

Ordo : Fabales

Family : Fabaceae

Genus : *Inocarpus*

Species : *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.

2.2.1 Morfologi Tumbuhan Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.)

Karena struktur pohonnya yang termasuk kedalam jenis batang berkayu, tumbuhan ini sering digunakan sebagai pohon peneduh, batangnya yang kriptot serta diater batangnya yang berukuran 4-6 m ini mendukung tinggi pohon hingga mencapai 20 m. Tumbuhan gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) memiliki bentuk daun elips memanjang, panjang daun 25 cm dan lebar 10 cm dengan warna daun hijau gelap serta memiliki permukaan bergelombang dengan tulang daun menyirip. Bunga pada tanaman ini berukuran kecil dengan warna putih kekuningan (Falanruw, 2015).



Gambar 2.1 Morfologi *Inocarpus fagiferus* (Park) Forst. (a) pohon (b) daun dan buah (c) biji (d) bunga (Sumber : Balai Penelitian Teknologi Agroforestry, 2012).

2.2.2 Kandungan Kimia dan Manfaat Tumbuhan Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.)

Inocarpus fagiferus (Park.) Forst. yang dikenal dengan nama gayam di daerah Jawa ini disebut juga pohon nusantara di Indonesia. Tanaman gayam ini tumbuh subur pada ketinggian ± 500 m dari permukaan laut. Bagian kulit batang tanaman gayam mengandung senyawa golongan triterpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan Santi (2000). Kulit pohonnya digunakan sebagai obat tradisional di Ambon. Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada kulit pohon gayam dengan menggunakan ekstraksi etanol yang dapat mengikat atau memisahkan senyawa fenol yang bersifat polar. Karena diameter batang pohon mencapai 4-6 m dengan tinggi 20 m, selain dimanfaatkan untuk prabotan rumah tangga, tanaman yang hidup di daerah tropis ini dapat pula digunakan sebagai tumbuhan peneduh. Bagian kayu dari tanaman ini banyak dimanfaatkan untuk pembuatan alat prabotan rumah tangga. Sementara bagian daunnya yang kaku, memiliki warna hijau gelap, pertulangan daun menyirip dan permukaan daunnya yang bergelombang diolah dan dimanfaatkan sebagai bahan pakan untuk ternak (Falanruw, 2005).

Musim berbunga tumbuhan gayam berkisar ± 1 bulan yaitu November hingga Desember dengan jenis biji yang dihasilkan yaitu biji tunggal berukuran kecil yang tumbuh di area ketiak daun dibagian ujung cabang ranting dengan kelopak berwarna putih pada bagian bunga (Falanruw, 2005). Sotheeswan dan Sharif (1994) mengungkapkan bahwa pada bagian biji tanaman gayam terdapat kandungan fitosterol, diasilgliserol, α -tokoferol dan komponen utama yaitu asam lemak linoleat. Selain dimanfaatkan dibidang peternakan, bagian lain dari

tanaman ini juga dimanfaatkan untuk diolah menjadi bahan makanan yaitu pada bagian buah.

Bagian daging biji gayam berpotensi sebagai sumber pangan alternatif dengan kandungan karbohidrat yang cukup tinggi antara 75,79-77,70% (Eprillani *et al.*, 2002), protein 10,54-4,04% (Wawo *et al.*, 2011) dan juga mengandung 7% lemak, 10% albumin dan 2,5% berupa abu (Burkill, 1966). Sementara itu berdasarkan penelitian Sotheeswaran *et al.*, (1994) bagian akar, kulit batang dan daun memiliki berbagai kandungan untuk obat diantaranya digunakan untuk menghentikan pendarahan internal, nyeri tulang serta rendaman daun segar diperas dan diminum setiap hari berpotensi untuk menurunkan demam tinggi karena malaria.

Buah yang masih mentah berwarna hijau namun apabila buah sudah matang, warna buah tersebut berubah menguning. Agar dapat dikonsumsi pertama-tama yang perlu dilakukan ialah memisahkan kulit buah terluar dengan bagian biji, setelah itu biji yang sudah bersih dari kulit tersebut direbus terlebih dahulu karena selain buah gayam ini memiliki bentuk bulat agak pipih dengan tekstur dari buahnya yang keras disertai garis tengah pada biji membuatnya harus terlebih dahulu dimasak untuk kemudian bisa dikonsumsi (Heyne, 1987).

2. 3 Jenis dan Sifat Pelarut

Bedasarkan konstanta dielektrikum pelarut organik dibedakan menjadi dua macam yaitu pelarut polar dan pelarut non polar. Konstanta dielektrikum dinyatakan sebagai gaya tolak menolak antara dua partikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul, artinya semakin tinggi konstanta dielektrikum yang dimiliki

pelarut maka pelarut tersebut bersifat polar (Sudarmadji, 1989). Konstanta dielektrikum pada beberapa pelarut dapat dilihat pada tabel 2.1

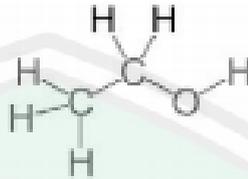
Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum pada pelarut organik

Pelarut	Besarnya Konstanta
n-heksan	2,0
Etil Asetat	6,0
Khloroform	4,8
Asam Asetat	6,2
Benzen	2,3
Etanol	24,3
Metanol	33,1
Air	80,4

(Sumber : Sudarmadji, 1989)

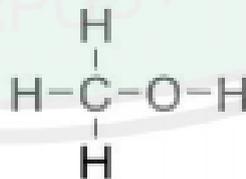
Pelarut yang dipilih dalam pada penelitian ini adalah etanol dan metanol. Etanol atau disebut juga etil alkohol adalah zat kimia yang termasuk dalam golongan alkohol (Abramson dan Singh, 2009). Etanol termasuk jenis pelarut yang mudah menguap, bersifat polar serta tidak berwarna (Sebayang, 2006). Sifat polar menyebabkan etanol sering digunakan sebagai bahan pengawet dalam dunia medis, pelarut obat dan sebagai desinfektan untuk menghilangkan toksisitas dari metanol dan etilen glikol, bahan baku untuk bahan organik lain seperti etil ester dan etil amin (Arora, 2007). Etanol memiliki titik didih sebesar 78,4⁰C sehingga bersifat mudah terbakar (Sianjuntak, 2009). Struktur kimia pada etanol berupa CH₃CH₂OH dengan rumus struktur Gambar 2.2 Senyawa hidrokarbon berupa

gugus hidroksil (-OH) dengan dua atom karbon (C) menyebabkan etanol dapat larut dengan cukup baik dalam air karena terdapat atom karbon yang dapat berikatan dengan molekul pada air (Weininger, 1972).



Gambar 2.2 Struktur kimia etanol (Sebayang, 2006)

Metanol atau disebut juga metil alkohol adalah zat kimia yang termasuk dalam golongan alkohol dengan bentuk paling sederhana dari alkohol (Abramson dan Singh, 2009). Metanol termasuk jenis pelarut yang mudah menguap, bersifat polar serta tidak berwarna dan larut dalam air (Epker dan Bakker, 2010). Metanol memiliki titik didih sebesar $64,5^{\circ}\text{C}$ sehingga bersifat mudah terbakar (Bradley, 2003). Metanol sering digunakan sebagai pelarut, pembuatan formaldehid dan asam organik. Struktur kimia metanol berupa CH_3OH dengan rumus struktur Gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur kimia metanol (Sebayang, 2006)

2.4 Ekstraksi Metode Maserasi

Penarikan satu atau lebih zat aktif yang terdapat pada bahan alami misalnya bagian tumbuhan menggunakan pelarut disebut proses ekstraksi (Syamsuni, 2006) pemilihan pelarut tersebut berdasarkan kemampuan polaritas pelarut (Harbone, 1987) pelarut yang digunakan tersebut masuk kedalam kapiler-kapiler bahan ekstrak tersebut dan bekerja dalam melarutkan kandungan komponen senyawa didalamnya. Komponen senyawa kimia atau zat aktif yang terkandung didalamnya berupa senyawa alkaloid, flavonoid, minyak atsiri dan lain-lain (Ditjen POM, 2000).

Maserasi merupakan metode yang paling banyak digunakan, selain prosesnya yang sederhana, maserasi memiliki beberapa keuntungan diantaranya minim terjadi kerusakan pada komponen kimia. Metode maserasi ini memiliki prinsip kerja pada difusi pelarut yang digunakan kedalam sel pada tanaman. Dihentikan apabila proses ekstraksi tersebut sudah mencapai titik keseimbangan. Tercapainya titik keseimbangan yang dimaksud adalah antara konsentrasi senyawa yang ada dalam pelarut dengan konsentrasi senyawa yang terdapat dalam sel tanaman.

Metode ini diawali dengan cara bahan yang akan digunakan menjadi serbuk terlebih dahulu, kemudian serbuk tanaman tersebut akan dimasukkan kedalam wadah beserta pelarut yang akan digunakan hingga sampel tersebut terendam kedalam larutan yang diletakkan pada suhu ruangan. Adapun hasil dari teknik maserasi ini berupa maserat yang selanjutnya dapat diuapkan dengan alat vakum (*Rotary vacuum evaporator*) menggunakan tekanan rendah dengan hasil akhir berupa ekstrak kasar (*Crude extract*) (Mukhriani, 2004).

Pelarut yang digunakan dalam metode ini selanjutnya larut dan memasuki dinding sel dan membran sel menuju rongga pada sel yang didalamnya memiliki kandungan zat aktif yang akan ikut larut. Perbedaan konsentrasi yang terjadi diluar dan didalam sel menyebabkan larutan yang ada di dalam sel dengan konsentrasi tinggi akan didesak keluar. Proses ini terjadi berulang-ulang hingga tercapainya titik keseimbangan (Ditjen BPOM, 2000).

Menurut Siedel (2008) umumnya dalam pemilihan pelarut yang akan digunakan pada metode pemisahan senyawa ditentukan dengan penentuan like dissolves like dengan tujuan senyawa non polar yang akan dipisahkan ikut larut dalam pelarut non polar yang digunakan. Begitupula senyawa polar ikut larut pada yang bersifat polar yang digunakan dalam metode pemisahan. Senyawa dengan sifat kepolaran yang sama dengan pelarutnya akan dapat dapat ikut larut, hal ini sebagaimana merupakan prinsip polarisasi (Harbone, 1987).

Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah etanol. Senyawa yang bersifat polar akan larut pada pelarut bersifat polar yang digunakan dalam metode pemisahan misalnya etanol, metanol, butanol dan air (Glitter *et al.*, 1991). Dalam hal ini penggunaan pelarut etanol 96% disebabkan pelarut tersebut merupakan senyawa polar yang mudah mengalami penguapan, sehingga dapat secara cepat dalam menangkap senyawa polar. Penelitian sebelumnya (Diem *et al.*, 2014) rendemen ekstrak etanol 96% pada daun beluntas kemampuannya dalam mengekstrak senyawa lebih baik, hal

ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin besar kadar yang diperoleh.

2.5 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan molekul senyawa kimia yang memiliki elektron tidak berpasangan (bebas) pada lapisan luarnya. Senyawa ini memiliki satu atau lebih elektron bebas. Elektron yang tidak berpasangan tersebut akan cenderung menarik elektron lain, sehingga elektron tersebut akan dimiliki bersama oleh dua atom senyawa dan terbentuk senyawa radikal bebas yang baru dan lebih reaktif. Adanya elektron dalam jumlah yang banyak tersebut memicu adanya stress oksidatif (Latifa, 2015).

Adanya stress oksidatif mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas didalam tubuh. Radikal bebas tersebut menyebabkan gangguan metabolit dan sel berupa gangguan yang terjadi pada fungsi DNA dan protein yang jika terjadi terus menerus dapat memicu terjadinya mutasi atau sitotoksik dan perubahan laju aktivitas enzim (Kinanti, 2011).

Radikal bebas memiliki 2 macam sifat yaitu dapat bersifat sangat reaktif cenderung menarik elektron senyawa lain. Selanjutnya radikal bebas memiliki kemampuan merubah senyawa atom maupun molekul menjadi senyawa radikal bebas baru (Morello *et al.*, 2002). Tujuan utama perusakan oleh radikal bebas adalah protein, lipoprotein, asam lemak tak jenuh, karbohidrat dan unsur-unsur DNA. Asam lemak tak jenuh bersifat paling rentan terhadap serangan radikal bebas yang mampu dirusaknya pada bagian membran sel, menyebabkan adanya reaksi antara radikal bebas dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang

terbentuk dari *lipid peroxidation*. *Lipid peroxidation* tersebut akan membentuk metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas yang disebut MDA (*Malondialdehyde*) (Sadeli, 2016). Senyawa yang dapat menghambat adanya reaksi oksidasi adalah antioksidan melalui pengikatan radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif.

Secara kimia, antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donors*), disebut demikian karena dilihat dari peranannya dalam menekan radikal bebas. Molekul pada radikal bebas memiliki susunan yang tidak stabil sehingga bekerja sangat reaktif disebabkan adanya satu bahkan lebih dari elektron yang dimilikinya tidak berpasangan (Lestari, 2018). Melalui cara apapun, radikal bebas tersebut akan berusaha keras untuk memperoleh pasangan agar tetap dalam posisi stabil. Apabila reaksi tersebut tidak dihentikan, reaksi dari radikal bebas tersebut dapat menimbulkan berbagai jenis penyakit dalam tubuh. Oleh karena itu diperlukan adanya substansi yang dapat menangkap reaksi radikal bebas tersebut. Radikal Bebas merupakan molekul atom yang mempunyai satu atau lebih molekul atom yang tak berpasangan. Adanya elektron yang tidak berpasangan tersebut menyebabkan sangat reaktif dan berenergi tinggi. Radikal bebas oksigen (RBO) diantaranya adalah -OH, -O₂ DAN ROO- yang termasuk kedalam radikal bebas sangat berbahaya (Silalahi, 2006).

Antioksidan secara biologis merupakan senyawa yang mampu mengatasi kerusakan elemen vital sebagai dampak negatif dari adanya oksidan dalam tubuh, pentingnya menjaga keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang ada dalam tubuh terutama berkaitan dengan fungsi dari kerja sistem imunitas tubuh serta mengontrol ekspresi gen dan transduksi signal yang terjadi dalam sel imun.

Menurut Winarsi (2015) antioksidan dibagi menjadi dua berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan bersifat sintetis atau buatan dan antioksidan bersifat alami.

- a. Antioksidan sintetis, merupakan antioksidan yang bersumber dari hasil sintesis reaksi kimia, antioksidan sintetis yang sering digunakan yaitu golongan senyawa fenol contohnya BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), *propylgallate*, *tertbutyl hydroquinone* (TBHQ) dan *nordihydroguaiaretic acid* (NHGA). Penggunaan antioksidan sintetis dalam jangka panjang akan menimbulkan efek pada tubuh. Penggunaan berlebihan bersifat karsinogenik bagi tubuh, pengujian terhadap BHA dan BHT menunjukkan adanya kemampuan keduanya dalam penyebab timbulnya tumor pada hewan percobaan dalam penggunaan jangka panjang (Andarwulan, 1996).
- b. Antioksidan alami, merupakan antioksidan yang bersumber dari hasil ekstraksi bahan alami umumnya diperoleh dari tumbuhan yaitu senyawa polifenol. Senyawa ini bersifat multifungsional dalam menangkap radikal bebas yaitu berfungsi sebagai pereduksi, pengkelat logam dan menekan pembentukan singlet oksigen (oksigen dengan kandungan energi yang tinggi dan bersifat reaktif terhadap senyawa-senyawa organik). Berbeda dengan antioksidan sintetis, antioksidan alami tidak memberikan dampak bagi tumbuh melainkan aman untuk dikonsumsi serta dapat menambah kandungan nutrisi yang ada pada minyak.

Apabila senyawa tersebut mampu menyumbangkan satu atau lebih elektron yang dimilikinya pada senyawa yang prooksidan dan dapat menstabilkan senyawa oksidan maka suatu senyawa tersebut dapat dikatakan bersifat

antioksidan (Winarsi, 2015). Biasanya sumber antioksidan alami dari golongan senyawa metabolit sekunder yaitu berasal dari golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin (Dewatisari, 2017). Senyawa Flavonoid termasuk senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang larut dalam pelarut polar (Markham, 1988) sehingga berpotensi sebagai antioksidan (Dewi *et al.*, 2014). Everet *et al.*, (1996) dan Pezzuto (2002) menyatakan bahwa kerusakan oksidatif dapat dihambat oleh senyawa penangkap radikal bebas dan penyumbang elektron seperti senyawa fenolik. Semakin tinggi kandungan fenolik dan flavonoidnya maka aktivitas penangkap radikalnya juga semakin meningkat (Utami *et al.*, 2005).

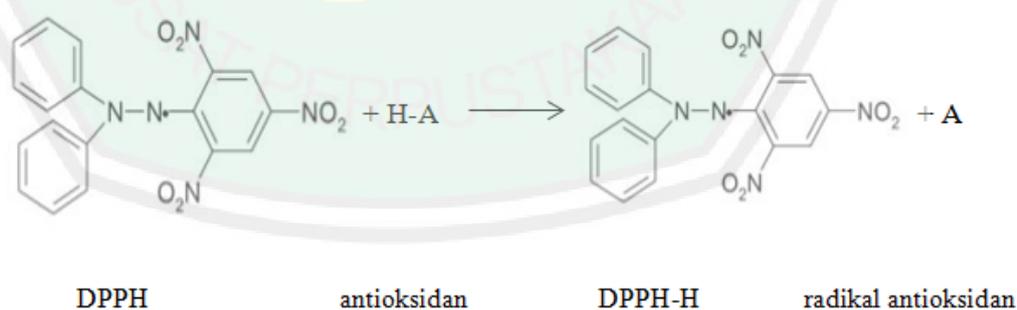
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan maupun senyawa organik dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Pertama *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT) contohnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Methods* (ORAC). Pengujian kedua yaitu menggunakan *Electron Transfer Methods* (ET) contohnya *1,1-diphenyl-3-picrylhydrazil* (DPPH) dan *2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)* ABTS. Sementara pengujian ketiga menggunakan metode *Total Oxidant Seavengling Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescenc* (Sayuti, 2015).

Metode yang sering digunakan adalah DPPH melalui *Electron Transfer Methods* (ET). Metode DPPH memiliki keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat dan mudah dilakukan, juga bersifat sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi kecil (Karadag, 2009). Pengujian ekstrak metode DPPH dengan langsung mengukur semua komponen antioksidan, baik larut

dalam lemak maupun dalam air dan mengukur efektivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun non polar. DPPH yang digunakan merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu ruang. DPPH tersebut akan menerima elektron atau radikal bebas berupa radikal hidrogen yang stabil pada suhu ruang kemudian membentuk molekul diamagnetic yang bersifat stabil. Interaksi yang terjadi antara antioksidan dan DPPH berguna untuk menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH tersebut (Bintang, 2010).

Mekanisme donor atom hidrogen oleh senyawa antioksidan terhadap radikal DPPH menyebabkan terjadinya perubahan warna pada DPPH dengan warna ungu menjadi kuning dengan pengukuran menggunakan panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna menunjukkan adanya elektron yang berpasangan dan mengindikasikan kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas (Hanani, 2005). Ketika antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH menghasilkan induksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan (Sandrasari, 2008). Reaksi yang terjadi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Reaksi radikal *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dengan antioksidan (Prakash, 2001)

Daya serap antioksidan yang paling kuat ditunjukkan pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi tersebut akan mengalami penurunan secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron yang diambil oleh elektron yang awalnya tidak berpasangan menjadi berpasangan karena adanya peredam radikal bebas (Dehpour, 2009).

Aktivitas antioksidan ditunjukkan oleh nilai harga konsentrasi efisien yang disebut *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) atau *Efficient Concentration* (EC_{50}) yang menunjukkan kemampuan antioksidan dalam menghambat 50% radikal DPPH atau persen penghambatan 50% zat antioksidan (Molyneux, 2004). Identifikasi nilai keefektifan dari suatu sampel dilihat dari nilai IC/EC yang diperoleh (Rohman, 2005). Tingkat keefektifan antioksidan berdasarkan uji DPPH pada nilai IC_{50}/EC_{50} adalah sebagai berikut :

Tabel 2.2 Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}

Nilai IC_{50}	Sifat Antioksidan
< 50 ppm	Sangat kuat
50 ppm-100 ppm	Kuat
100 ppm-150 ppm	Sedang
150 ppm-200 ppm	Lemah

(Sumber : Molyneux, 2004)

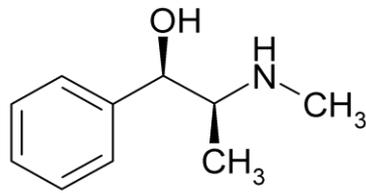
Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH telah dilakukan pada ekstrak etanol 96% daun dan kulit *Lagenaria siceraria* secara berturut-turut yaitu 9,268 mg/L dan 9,332 mg/L menunjukkan nilai IC_{50} keduanya kurang dari 50 ppm sehingga dikatakan bahwa keduanya memiliki jenis antioksidan alami bersifat sangat kuat (Masrifah, 2017). Selain itu metode DPPH

digunakan oleh Andriani (2016) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun pepaya menggunakan pelarut air, dengan nilai aktivitas antioksidan yaitu IC_{50} sebesar 41,34 ppm. Ekstrak cantigi ungu juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang baik menggunakan metode uji DPPH oleh Syahputra (2017) pada ekstrak metanol billberry dan ekstrak cantigi ungu dengan asam askorbat sebagai kontrol menunjukkan nilai IC_{50} 242,9 ppm pada ekstrak billberry dan 44,9 ppm pada ekstrak cantigi ungu dan 5,7 ppm pada asam askorbat. Hal ini menunjukkan ekstrak cantigi ungu memiliki IC_{50} yang lebih kuat dibandingkan ekstrak billberry. Begitu juga berdasarkan penelitian Sasmita (2019) terhadap ekstrak bagian daun, kulit buah dan biji tanaman kopi menggunakan pelarut etanol 96% menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak daun kopi (32,2 ppm) lebih tinggi dari pada ekstrak biji kopi (57,4 ppm) dan ekstrak kulit buah (175,4 ppm).

2.7 Kandungan Metabolit Sekunder

2.7.1 Alkaloid

Merupakan senyawa bersifat organik yang banyak dijumpai di alam. Penggolongan alkaloid sendiri didasarkan pada sistem cincinnya, yaitu piridina, piperidina, indol, isokuinolina dan tropana. Pemisahan alkaloid dilakukan berdasarkan sifat basanya, karena sifat basanya menyebabkan alkaloid mudah terdekomposisi oleh adanya panas, sinar dan oksigen membentuk N-oksida. Alkaloid diisolasi menggunakan HCL atau H_2SO_4 , dimana garam bebas atau alkaloid yang terbentuk membentuk kristal padat yang tidak memiliki warna (Kristanti *et al.*, 2008).



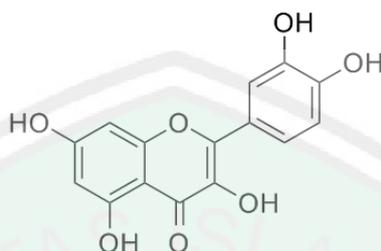
Gambar 2.5 Struktur kimia Alkaloid (*International Union of Pure and Applied Chemistry, 1995*).

Untuk mendeteksi alkaloid, pereaksi yang paling banyak digunakan yaitu pereaksi Mayer (kalium tetraiodomercurat), karena dengan pereaksi ini hampir semua alkaloid dapat diendapkan. Sedangkan selain Mayer yang digunakan adalah Wagner (iodium yang terdapat dalam kalium iodida), asam silikolungstat 5%, asam tanat sebanyak 5%, pereaksi lain yaitu Dragendorff dari (kalium tertriiodobismutat) (Robinson, 1995). Uji alkaloid sendiri menurut Jones and Kinghom (2006) dengan cara melarutkan sebanyak 2 ml dari ekstrak yang akan diuji kemudian diuapkan hingga diperoleh residu kemudian residu tersebut dilarutkan dalam 5 ml HCL 2 N kemudian hasil tersebut dibagi kedalam 3 bagian menggunakan tabung reaksi. Tabung pertama menggunakan HCL 2N sebagai blanko. Tabung kedua pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Adanya alkaloid ditunjukkan oleh terbentuknya endapan putih hingga kekuningan pada penambahan pereaksi Mayer ditabung ke 3. Sebagian besar alkaloid tidak larut atau sedikit larut dalam air, tetapi alkaloid dapat bereaksi dengan asam membentuk garam yang larut dalam air (Setiawan, 2003).

2.7.2 Flavonoid

Golongan fenol terbesar yang ditemukan di alam adalah flavonoid dalam bentuk glikosida, golongan hidroksil fenolik (Sirait, 2007, Bhat *et al.*, 2009).

Senyawa flavonoid ini juga merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat *et al.*, 2009). Warna flavonoid dapat berubah dengan adanya penambahan basa atau amoniak.



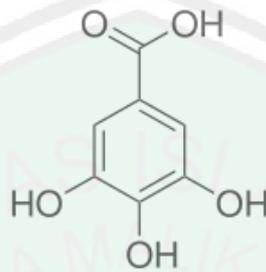
Gambar 2.6 Struktur kimia Flavonoid (*International Union of Pure Applied Chemistry, 1995*).

Adapun uji wilstatter dengan cara penambahan 2-4 tetes HCL pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg, perubahan warna yang terjadi . Selanjutnya Uji Bate-Smith dilakukan dengan penambahan HCL pekat kemudian dipanaskan selama 15 menit, adanya warna merah menunjukkan reaksi positif (Achmad, 1986). Uji dengan NaOH 10% yaitu dengan penambahan pereaksi NaOH 10%. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang spesifik (Harbone, 1987), dan yang terakhir adalah uji dengan golongan polifenol, dengan penambahan larutan Fecl₃ 10% dalam aquades, terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru dan hitam yang kuat menunjukkan adanya golongan flavonoid (Harbone, 1987).

2.7.3 Tanin

Senyawa yang umum dimiliki oleh tanaman berpembuluh adalah tanaman yang jika direaksikan dengan protein akan terbentuk kopolimer yang tidak dapat larut dalam air. Secara kimia, senyawa tanin terbagi atas dua bagian yaitu tanin yang terkondensasi dan tanin yang terhidrolisis. Tanin terkondensasi terbentuk

dengan cara kondensasi katekin tunggal yang kemudian membentuk senyawa dimer, selanjutnya membentuk senyawa oligomer yang lebih tinggi. Sedangkan tanin terhidrolisis merupakan tanin yang memiliki ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam larutan asam klorida encer (Harbone, 1987).

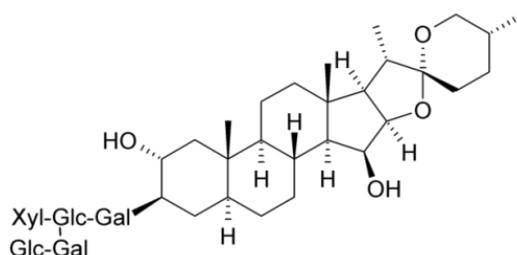


Gambar 2.7 Struktur Kimia Tanin (*International Union of Pure and Applied Chemistry, 1995*).

Untuk mengetahui adanya senyawa tanin dengan cara ekstrak sampel dilarutkan kedalam metanol sampai sampel terendam semuanya, kemudian tambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau menunjukkan positif terhadap adanya tanin (Sangi *et al.*, 2008).

2.7.4 Saponin

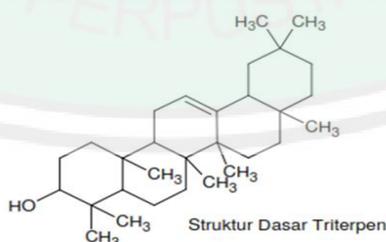
Saponin merupakan glikosida amfipatik dalam tumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya busa saat dilakukan ekstraksi (Harbone, 1987). Untuk mendeteksi adanya saponin dilakukan dengan cara memasukkan 1 gram ekstrak sampel kedalam tabung reaksi, ditambahkan aquades hingga sampel terendam secara keseluruhan, dididihkan 2-3menit, setelah dingin, kemudian kocok dengan kuat. Terbentuknya busa yang stabil menunjukkan reaksi positif akan adanya saponin.



Gambar 2.8 Struktur kimia Saponin (*International Union of Pure and Applied Chemistry, 1995*).

2.7.5 Triterpenoid

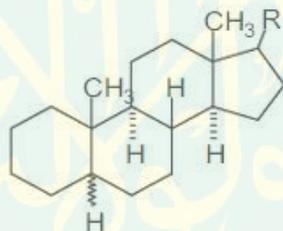
Bagian dari tumbuhan yang memiliki aroma dan diperoleh dari bahan alami serta diperoleh melalui proses penyulingan salah satunya merupakan anggota senyawa triterpenoid. Umumnya ditemukan dalam tumbuhan berbiji sebagai glikosida. Senyawa triterpenoid yang paling umum adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995). Secara umum, dilakukan uji pereaksi Libermann-burchard untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid (Harbone, 1987). Berdasarkan penelitian Bawa (2009) menyatakan bahwa terjadinya perubahan warna dari hijau tua menjadi ungu tua menunjukkan adanya golongan dari senyawa triterpenoid menggunakan libermann-burchard.



Gambar 2.9 Struktur kimia Triterpenoid (*International Union of Pure and Applied Chemistry, 1995*).

2.7.6 Steroid

Turunan dari senyawa siklopentanoperhidrofenantrena, beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol (Poedjiadi, 1994). uji warna pada steroid menggunakan pereaksi uji lieberman-Bunchard, dapat diidentifikasi dengan terbentuknya warna hijau biru yang menunjukkan reaksi tersebut bersifat positif. Uji fitokima dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak sampel dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 ml kloroform, ditambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan 1-2 ml H₂SO₄ pekat, reaksi positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kebiruan yang menunjukkan adanya golongan senyawa steroid (Halimah, 2010).



Gambar 2.10 Struktur kimia Steroid (*International Union of Pure and Applied Chemistry, 1995*).

2.8 Analisis Kadar Total Flavonoid

Umumnya senyawa flavonoid dalam tumbuhan sering ditemukan berupa glikosida (flavonoid glikosida) (Ridho, 2013) pada semua bagian tumbuhan yaitu daun, akar kayu, kulit batang, bunga, buah, biji, nektar. Pengukuran total flavonoid dalam sampel dilakukan dengan penambahan aluminium klorida (AlCl₃) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan standar kuersetin. Kuersetin termasuk jenis flavonoid yang sering digunakan sebagai standar untuk

menentukan kadar flavonoid, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Pakaya, 2015 dan Kelly, 2011).

Penambahan $AlCl_3$ pada pengukuran total flavonoid dapat membentuk kompleks, sehingga terjadinya pergeseran pada panjang gelombang tampak (visible) ditandai dengan perubahan warna pada larutan. Sedangkan penambahan natrium asetat berfungsi untuk mempertahankan panjang gelombang untuk tetap berada pada daerah tampak (visible) (Chang, 2002). Kadar flavonoid yang terdapat dalam tanaman masing-masing bagian berbeda, adanya perbedaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ketersediaan air, kadar CO_2 di atmosfer, sinar UV, nutrisi pada tanaman dan temperatur (Neldawati, 2013).

Berdasarkan Penelitian yang telah dilakukan (Aminah, 2015) diperoleh total flavonoid dari ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 4,0122 mg/g. Selain itu diantara empat rimpang Zingiberaceae total flavonoid tertinggi ditunjukkan *H. Roxburghii* yaitu 0,162%, kemudian *A. hochreutineri* 0,076% kemudian *N. Hemisphaerica* 0,071% dan terendah *H. Pininga* 0,04%. Selain itu (Ghasemzadeh, 2011) menyatakan bahwa kadar total fenol dan flavonoid menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh yaitu semakin tinggi kadar senyawa tersebut maka semakin kuat pula aktivitas antioksidannya pada ekstrak kulit batang pulai dengan kadar fenol 51,5 mg GAE/g ekstrak sedangkan kadar flavonoidnya 0,35 mg QE/g ekstrak menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 211,54 ppm menggunakan metode DPPH.

2.9 Spektrofotometer UV-Vis

Untuk menentukan daya serapan (absorbansi) terhadap sinar dalam sebuah larutan dengan warna tertentu digunakan alat Spektrofotometer UV-Vis, absorbansi yang dihasilkan tersebut seimbang dengan konsentrasi zat dengan ion yang bersifat warna. Senyawa yang berwarna akan menghasilkan satu atau lebih penyerapan spektrum yang tertinggi didaerah (400-700 nm) pada spektrum tampak. Sedangkan spektrum yang terserap pada ultra violet yaitu (200-400 nm). Daerah nampak tersebut dapat terjadi karena adanya perubahan energi pada elektron terluar dari suatu molekul yang disebabkan oleh adanya suatu ikatan maupun bukan ikatan (Sudarmadji, 1996). Spektrometri didasarkan pada terjadinya interaksi radiasi elektromagnetik dengan partikel, adanya interaksi tersebut menyebabkan energi dapat diserap atau dipancarkan oleh partikel dan dihubungkan pada konsentrasi analit suatu larutan.

Prinsip dasar spektrometri UV-Vis yaitu ketika suatu molekul mengabsorbansi radiasi UV-Vis pada panjang gelombang tertentu, elektron yang terdapat dalam suatu molekul akan mengalami transisi dari tingkat energi rendah ke yang lebih tinggi yang memiliki karakter berbeda-beda pada tiap senyawa. Sedangkan penyerapan cahaya oleh molekul terjadi jika energi radiasi yang dipancarkan pada atom analit yang besarnya sama dengan perbedaan tingkat energi yang ada pada transisi elektron (Rudi, 2004).

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu : (Gandjar dan Rohman, 2007)

- a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

cara yang digunakan adalah dengan merubahnya menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu sehingga dapat menyerap sinar UV-Vis.

b. Waktu kerja (*operating time*)

Bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dan absorbansi larutan.

c. Pemilihan panjang gelombang

Untuk analisis kuantitatif panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang dengan absorbansi maksimal.

d. Pembuatan kurva kalibrasi

Membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

e. Pembacaan absorbansi sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif. Deskriptif kuantitatif dilakukan untuk mengetahui analisis total senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan nilai IC_{50} pada uji antioksidan bagian daun dan biji dengan pelarut masing-masing menggunakan DPPH 0,2 mM.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan bulan Maret-Agustus 2019. Pengambilan sampel dilaksanakan di Desa Kanigoro, Pasuruan Jawa Timur. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan (tahap ekstraksi dan identifikasi senyawa aktif), Laboratorium Genetika (analisis antioksidan) Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Fitokimia Materia Medica Batu.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kantong plastik, pisau, gunting, kertas label, alat tulis, penumbuk, blender, oven, pipet tetes, mikro pipet, neraca analitik, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, pengaduk kaca, spatula, pengaduk kaca, ayakan 60 mesh, kertas saring, corong kaca, toples maserasi, gelas ukur (Iwaki), gelas beaker, sarung tangan, masker, tissue, aluminium foil, rotary vacuum evaporator, kuvet dan Spektrofotometri UV-Vis.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun dan biji tanaman *I. fagiferus* (Park.) Forst yang berasal dari Desa Kanigoro Pasuruan, etanol 96%, metanol 96%, asam askorbat, aquadest, *1,1-difenil-2-pikril-hidrazil* (DPPH), serbuk Mg, HCL pekat, aquades, NaCl 10%, FeCl₃, reagen Dragendroff, kloroform, asetat anhidrat, H₂SO₄, kuersetin, Natrium asetat, dan AlCl₃.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman

Sampel yang diperoleh dari daerah Kanigoro Kabupaten Pasuruan dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan.

3.4.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dan biji tanaman *I. fagiferus* (Park) Forst. Proses pembuatan simplisia dimulai dari sortasi, pembersihan, pencucian, penirisan, perajangan, pengeringan menggunakan oven dengan cara ditimbang daun dan buah *I. fagiferus* (Park) Forst sebanyak 1 kg, dicuci kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari tidak langsung selanjutnya dimasukkan kedalam oven suhu 40⁰C selama 48 jam sampai kadar air habis yang disebut simplisia kasar. Pengeringan dilakukan untuk menurunkan kadar air dalam sampel, menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah tumbuhnya jamur. Parameter uji tidak lebih dari 10% untuk kadar air (Depkes RI, 1977). Menurut Mutmainnah (2015) jika kadar air dalam bahan yang akan digunakan tergolong tinggi maka dapat mengaktifkan enzim kemudian enzim tersebut akan beraktifitas

dalam mengubah kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun maupun biji menjadi senyawa lain, sehingga bisa saja tidak berfungsi sebagaimana senyawa aslinya.

Simplisia yang masih kasar tersebut ditimbang untuk kemudian diserbukkan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan berukuran 60 mesh hingga diperoleh serbuk simplisia untuk kemudian ditimbang kembali. Tujuan dalam melakukan penghalusan pada sampel hingga menjadi bubuk simplisia yaitu untuk memperluas permukaan sampel hingga memudahkan bertemunya pelarut dan sampel saat proses ekstraksi. Karena menurut (Voight, 1995 dalam Mutmainnah 2015) bahwa semakin kecil ukuran bahan yang digunakan (sampel) maka semakin besar pula luas permukaannya dan terjadinya interaksi antara sampel dan pelarut dalam proses ekstraksi semakin besar dan proses ekstraksi tersebut dapat berlangsung secara efektif.

3.4.3 Pengukuran Kadar Air Simplisia

Untuk menentukan kadar air digunakan rumus :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot sampel awal} - \text{Bobot simplisia akhir}}{\text{Bobot sampel awal}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

3.4.4 Pembuatan Ekstrak Sampel dengan Maserasi

Disiapkan toples untuk maserasi. Tahap pertama yang dilakukan dalam ekstraksi sampel yaitu penimbangan simplisia. Simplisia daun dan biji sebanyak 50 gram diekstrak dengan perbandingan pelarut 1:10 (b/v). Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dan metanol 96% lalu disimpan dalam suhu kamar selama 2x24 jam setelah itu disaring. Hasil yang diperoleh dari penyaringan tersebut dinamakan filtrat. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan untuk kemudian

dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

3.4.5 Uji Fitokimia

a. Flavonoid

sebanyak 1 ml ekstrak daun gayam dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1-2 ml metanol panas kemudian ditambahkan serbuk Mg, selanjutnya ditambahkan HCl sebanyak 0,5 ml. Terbentuknya warna merah ataupun jingga menunjukkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid (Marliana, 2005).

b. Tanin

Ekstrak daun gayam sebanyak 1,5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes aquades panas, didinginkan kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan NaCl 10% sebanyak 3 tetes, kemudian ditambahkan 2 tetes FeCl₃. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan bahwa sampel positif mengandung tanin (Marliana, 2005).

c. Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak daun gayam dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquades, dikocok selama 30 detik. Jika terdapat busa dan tidak hilang dalam 30 detik menunjukkan bahwa sampel positif mengandung saponin (Marliana, 2005).

d. Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun gayam dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 3-5 tetes pereaksi Dragendroff. Terbentuknya endapan berwarna

cokelat atau jingga menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid (Nursal, 2006).

e. Terpenoid atau Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak daun gayam dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml kloroform, ditambahkan 0,5 ml asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pada campuran tersebut. Apabila terbentuk warna hijau atau biru, maka sampel positif mengandung steroid. Sedangkan apabila terbentuk warna ungu atau merah, maka sampel positif mengandung triterpenoid (Mojab, 2005).

3.4.6 Analisis Total Kadar Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Perbandingan (Kuersetin)

Larutan stok 1000 ppm kuersetin disiapkan dengan cara ditimbang 10 mg kuersetin dilarutkan dengan 10 ml pelarut dalam labu ukur. Selanjutnya dibuat konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm sebagai konsentrasi perbandingan. Masing-masing diambil sebanyak 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan masing-masing 1 ml aluminium (III) klorida 2% dan natrium asetat 120 mM dan 2,8 ml aquades, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya absorbansi larutan perbandingan (kuersetin) diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 435 nm. Larutan tersebut diukur sebanyak tiga kali. Setelah diperoleh nilai absorbansi masing-masing, dibuat kurva kalibrasi hingga diperoleh garis regresi persamaan linear.

2. Pengukuran Serapan Blanko

Sebanyak 1 ml larutan kuersetin ditambahkan pelarut hingga mencapai volume 5 ml dalam labu ukur. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 435 nm. Perlakuan tersebut diulang sebanyak tiga kali.

3. Pengukuran Kadar Flavonoid Total pada ekstrak daun dan gayam (*I. fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut Yang Berbeda.

Sebanyak 20 mg ekstrak dilarutkan dengan 10 ml pelarut dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok. Diambil sebanyak 1 ml larutan stok dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml Aluminium (III) klorida 2%, natrium asetat 120 mM dan 2,8 ml aquades, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya absorbansi larutan pembanding (kuersetin) diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 435 nm. Larutan tersebut diukur sebanyak tiga kali dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi.

3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji *Inocarpus fagiferus* (Park) Forst dengan Metode DPPH.

1. Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,2 mM

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 0,8 mg DPPH dilarutkan dengan 10 ml masing-masing pelarut dalam labu ukur. Kemudian disimpan dalam suhu ruang dan terhindar dari cahaya.

2. Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan stok DPPH 0,2 mM dipipet sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 6 ml dan ditutup menggunakan alumunium foil kemudian dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya diinkubasi dalam oven selama 30 menit dengan suhu 37°C. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 517 nm.

3. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun dan Biji *I. fagiferus* (Park) Forst Metanol 96% dan Etanol 96%.

Larutan uji Ekstrak daun dan biji disiapkan dengan cara ditimbang 10 mg ekstrak kental daun dan biji *I. fagiferus* (Park.) Forst dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut Metanol 96% dan Etanol 96% sambil dihomogenkan, larutan ini adalah larutan induk yang diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya larutan induk dibuat konsentrasi 1, 3, 5, 7 dan 9 ppm masing-masing ekstrak.

4. Pengukuran Absorbansi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi Larutan uji masing-masing diambil sebanyak 6 ml dimasukkan tabung reaksi, ditambahkan 2 ml DPPH 0,2 mM dan dihomogenkan menggunakan vortex kemudian diinkubasi dalam oven selama 30 menit dengan suhu 37°C. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 kali.

Adapun besar daya antioksidan yang diperoleh dapat diketahui melalui perhitungan menggunakan rumus :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

3.4.8 Pembuatan Larutan Asam Askorbat

1. Pembuatan Larutan Asam Askorbat

Asam askorbat sebanyak 10 mg ditimbang dan dilarutkan dengan masing-masing pelarut hingga 10 ml, sambil dihomogenkan sehingga diperoleh larutan induk konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dibuat konsentrasi 0.5, 1, 1.5, 2, dan 2.5 ppm.

2. Pengukuran Absorbansi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Konsentrasi larutan asam askorbat masing-masing diambil sebanyak 6 ml dimasukkan tabung reaksi ditambahkan 2 ml DPPH 0,2 mM dan dihomogenkan menggunakan vortex kemudian diinkubasi dalam oven selama 30 menit dengan suhu 37°C. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 kali.

3.5 Teknik Analisis Data

Data pengamatan pada penelitian ini adalah berupa kuantitatif. Data kuantitatif berupa uji total flavonoid dan aktivitas antioksidan. Data hasil analisis kadar flavonoid di analisis absorbansi nya kemudian diperoleh kurva kalibrasi pembandingan selanjutnya dianalisis jumlah total flavonoidnya. Selanjutnya data hasil analisis aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi

linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kemudian dideskripsikan hasilnya. Data hasil pengamatan selain dianalisis secara deskriptif kuantitatif juga dianalisis dengan menggunakan pendekatan integrasi Sains dan Islam berbasis religius.





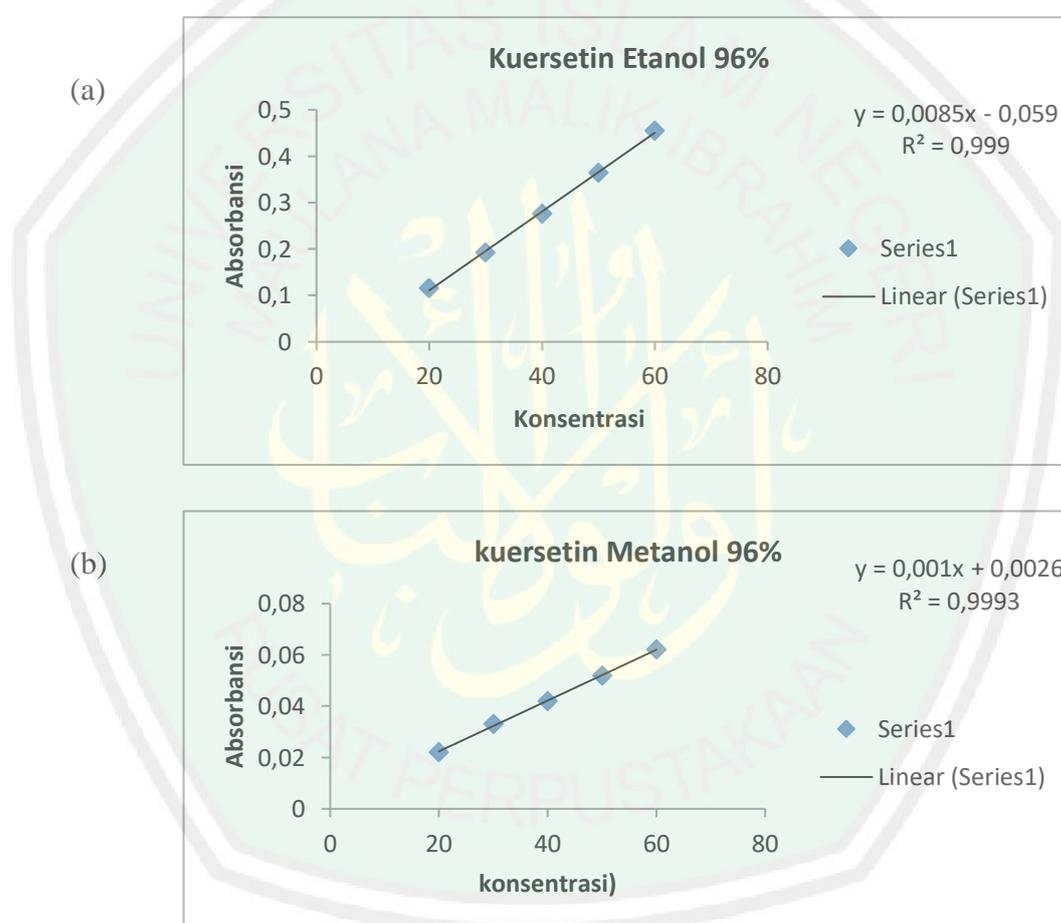
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Kadar Flavonoid Total

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder golongan senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan pada jaringan tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena keberadaan atom oksigen pada gugus hidroksil dengan pasangan elektron bebas yang bekerja sebagai penghambat atom reaktif susunan atom pada senyawa radikal bebas (Egwaikhide dan Gimba, 2007). Penetapan kadar flavonoid total dapat dilakukan dengan pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 435 nm. Ekstrak daun *I. fagiferus* (Park.) Forst direaksikan dengan AlCl_3 dan natrium asetat hingga terbentuk larutan berwarna kuning. Penetapan flavonoid total melalui penambahan AlCl_3 menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dari flavonoid. Menurut Chang dkk (2002) terbentuknya warna kuning disebabkan oleh pembentukan kompleks asam yang stabil dengan gugus hidroksil dari senyawa flavonoid tersebut. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka akan semakin pekat warna yang dihasilkan. Larutan standart yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin. Umumnya flavonoid yang paling sering ditemukan adalah kuersetin 3-rutinosida dalam bentuk glikosida pada tanaman (Harbone, 1998). Selain itu pemilihan kuersetin sebagai larutan standart yaitu karena kemampuannya bereaksi dengan AlCl_3 dalam membentuk kompleks (Kelly, 2011).

Larutan standar kuersetin dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Masing - masing konsentrasi diukur nilai absorbansinya kemudian diperoleh persamaan garis linear yang akan digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol 96% dan metanol 96% daun *I. fagiferus* (Park.) Forst. Dari data tersebut dibuat kurva kalibrasi kuersetin untuk menentukan garis persamaan kurva linear (Gambar 4. 1)



Gambar 4.1 Kurva kalibrasi kuersetin (a) menggunakan pelarut etanol 96% (b) menggunakan metanol 96%.

Gambar 4.1 menunjukkan hasil pengukuran kadar flavonoid total menghasilkan persamaan $y = 0,00085x - 0,059$ ($R^2 = 0,999$) menggunakan pelarut etanol 96% dan $y = 0,001x + 0,0026$ menggunakan pelarut metanol 96% dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan konsentrasi kuersetin. Kemudian kadar flavonoid total dapat ditentukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi sampel pada persamaan kurva (Lampiran 4) hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun dan biji gayam (*I. fagiferus* (Park.) Forst.) menggunakan pelarut yang berbeda .

Pelarut	Sampel Ekstrak	Absorbansi Rata-rata	Kadar Ekivalen (ppm)	Kadar Flavonoid Total (%)
Metanol	Daun	0,0376	0,3507	1,7537%
	Biji	0,0187	16,1	0,805%
Etanol	Daun	0,5533	65,788	3,2894%
	Biji	0,1150	20,47	1,0235%

Perhitungan kadar total flavonoid diperoleh dari nilai triplo absorbansi sampel dihitung rata-ratanya, kemudian rata-rata sampel tersebut dimasukkan kedalam persamaan garis linear kuersetin pelarut (etanol dan metanol) yang telah diperoleh . Berdasarkan hasil penetapan kadar flavonoid total sampel pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa kadar flavonoid total yang diperoleh tertinggi pada ekstrak etanol 96% daun gayam sebesar 3,2849%. Flavonoid yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar (Gillespie, 2001). Menurut Dirjen POM (2014)

kisaran kadar flavonoid total berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh yaitu 0,2-0,8 dengan kadar total dinyatakan dalam bentuk satuan miligram ekuivalen terhadap kuersetin tiap gram ekstrak (mg QE/g). Berdasarkan pernyataan tersebut menunjukkan bahwa hasil absorbansi yang diperoleh dari ekstrak etanol 96% pada daun gayam dinyatakan mengandung kadar flavonoid. Dilihat dari data yang diperoleh daun gayam yang diekstrak dengan pelarut etanol memiliki total flavonoid tertinggi dibandingkan pelarut lainnya. Hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut yang melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari tingkat kepolaran pelarut dan senyawa yang diekstrak. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harbone, 1987).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mengandung sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar (Kemit, 2010). Terjadi difusi pelarut kedalam sel tanaman pada saat proses maserasi. Pelarut selanjutnya akan larut dan memasuki dinding sel dan membran sel menuju rongga pada sel yang didalamnya memiliki kandungan zat aktif yang akan ikut larut karena adanya perbedaan konsentrasi yang terjadi diluar dan didalam sel menyebabkan senyawa aktif yang ada dalam sel dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan didesak keluar. Menurut Ditjen BPOM (2000) proses pengeluaran senyawa aktif dalam sel ini akan terjadi berulang-ulang hingga tercapainya titik keseimbangan didalam dan diluar sel.

Total flavonoid pada ekstrak daun gayam dengan pelarut etanol menunjukkan bahwa pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang menyerupai dan lebih efektif dalam melarutkan senyawa flavonoid pada daun gayam.

Sedangkan metanol merupakan merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan baik yang bersifat semi polar, polar dan non polar (Lenny, 2006). Senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut. Tingginya total flavonoid pada ekstrak daun gayam dengan pelarut etanol menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun gayam mempunyai kepolaran yang sama dengan etanol, sehingga ekstrak daun gayam dengan pelarut etanol menghasilkan kandungan senyawa flavonoid tertinggi.

Persamaan garis linear kuersetin etanol 96% yang telah diperoleh yaitu $y = 0,00085x - 0,059$ sehingga diperoleh kadar total flavonoid untuk ekstrak etanol 96% daun gayam (*I. fagiferus* (Park.) Forst.) sebesar 32,894 mg QE/g atau 3,2894%. Banyaknya jumlah gugus hidroksi pada struktur molekul flavonoid yang dapat mereduksi radikal bebas berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Zuraida, 2017). Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan antara struktur senyawa flavonoid dengan aktivitasnya sebagai antioksidan dalam mereduksi radikal bebas berdasarkan jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulnya.

Flavonoid akan mendonorkan elektron hidrogennya untuk menstabilkan senyawa radikal bebas, sehingga semakin tinggi kandungan senyawa flavonoid (TFC) dalam ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Shinta, 2018). Berdasarkan penelitian Ramachandra (2012) faktor pelarut dan lingkungan seperti komposisi tanah, suhu, curah hujan radiasi ultraviolet dan ketebalan dinding sel dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenolik termasuk

flavonoid. Ketebalan dinding sel berhubungan dengan kerusakan dinding sel selama pengeringan akan mempermudah masuknya pelarut untuk mengeluarkan senyawa metabolit sekunder dalam bahan (Hernani dan Raharjo, 2005). Suatu bahan perlu diketahui kadar airnya untuk menghentikan reaksi enzimatik yang mungkin mengakibatkan adanya perubahan pada kandungan metabolit sekunder. Menurut Depkes RI (1977) parameter uji untuk kadar air yang diperoleh tidak boleh lebih dari 10%. Berdasarkan hasil uji kadar air simplisia daun dan biji *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst. yang diperoleh yaitu pada bagian daun sebesar 3,39% dan bagian biji sebesar 8,21% menunjukkan bahwa nilai kadar air sampel ini memenuhi standar BPOM yaitu <10%. Menurut Mutnainnah (2015) jika kadar air dalam sampel tergolong tinggi dapat mengaktifkan enzim yang bekerja dalam mengubah kandungan senyawa metabolit sekunder dalam sampel menjadi senyawa lain dan tidak berfungsi sesuai dengan yang diharapkan.

4.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol 96% dan Etanol 96% Daun dan Biji *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst menggunakan DPPH.

Uji aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dengan pelarut yang berbeda dilakukan dengan metode DPPH pada panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan beberapa variasi konsentrasi yaitu 1, 3, 5, 7 dan 9 ppm dengan asam askorbat sebagai larutan perbandingan (kontrol). Penggunaan larutan perbandingan untuk mengetahui absorbansi DPPH (radikal) dalam mereduksi sampel (Arindha, 2010). Senyawa DPPH merupakan radikal bebas yang stabil berwarna ungu. Ketika direduksi oleh radikal bebas akan berwarna kuning (*diphenyl picrylhydrazin*, berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer H[•] sekaligus juga untuk mengukur aktifitas penghambatan radikal

bebas. Campuran reaksi larutan sampel dan DPPH diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. DPPH merupakan enzim dengan sisi aktif pengikat substrat dalam reaksi untuk menghasilkan suatu produk sedangkan antioksidan merupakan inhibitor yang dapat mengikat enzim sehingga dapat bersifat stabil, oleh karena itu diperlukan suhu optimum agar enzim tersebut bekerja secara optimal (Werdhasari, 2014). Selanjutnya hasil reaksi tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 517 nm dimana Spektrofotometer Uv-Vis merupakan alat dengan teknik spektrofotometer pada daerah ultra-violet dan sinar tampak. Alat ini digunakan untuk mengukur serapan sinar ultraviolet atau sinar tampak oleh suatu materi dalam bentuk larutan (Seran, 2011) semakin terang warna partikel terlarutnya maka semakin rendah nilai absorban yang dihasilkan.

Interaksi yang terjadi antara antioksidan dan DPPH yaitu adanya antioksidan dalam sampel mampu menetralkan adanya radikal bebas dari DPPH yang digunakan (Bintang, 2010). Senyawa antioksidan tersebut akan bekerja dengan cara mendonorkan atom hidrogennya terhadap radikal DPPH menyebabkan perubahan warna pada larutan uji yaitu dari warna ungu menjadi kuning. Menurut (Hanani, 2005) perubahan warna tersebut mengindikasikan kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas (DPPH) melalui elektron berpasangan.

Ekstrak dengan pelarut dan konsentrasi yang berbeda menunjukkan kemampuan peredaman radikal bebas oleh antioksidan berbeda pula. Besarnya konsentrasi antioksidan dalam menghambat radikal bebas didefinisikan dalam nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*) yaitu kemampuan antioksidan dalam

menghambat aktivitas radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ yang semakin rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar pada bahan uji (Molyneux, 2004). Hasil IC₅₀ tanaman *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst dengan pelarut berbeda ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil IC₅₀ ekstrak daun dan biji *I. fagiferus* (Park.) Forst menggunakan pelarut metanol 96% dan etanol 96%

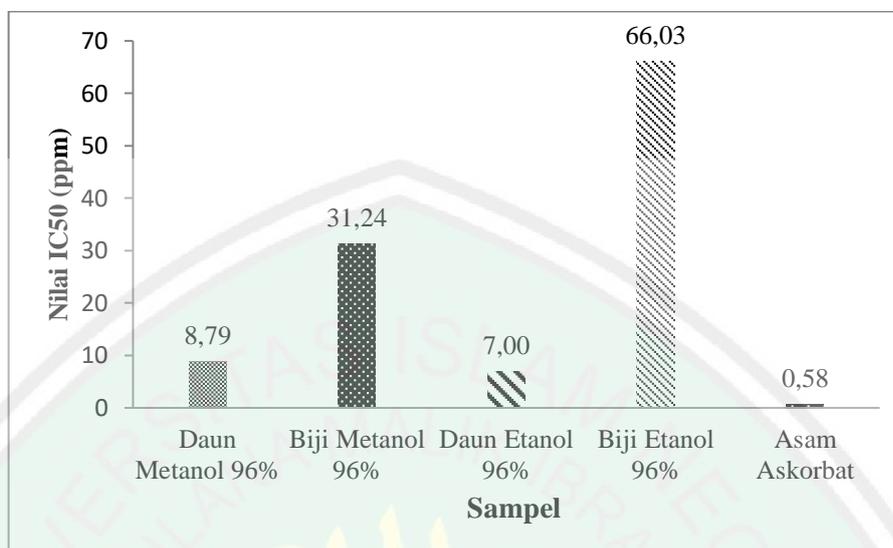
PELARUT	JENIS EKSTRAK	konsentrasi sampel (ppm)	Absorbansi	Hambatan (%)	Persamaan Regresi	R	IC50 (ppm)	
METANOL	DAUN	kontrol	0.4125		$y = 5.4842x + 1.7501$	0.999	8,79	
		1	0.3829	7.187007635				
		3	0.3375	18.17961459				
		5	0.2929	28.98436553				
		7	0.2443	40.77081566				
		9	0.2032	50.73324446				
	BIJI	kontrol	0.6043		$y = 0.7671x - 0.6538$	0.999	66.03	
		1	0.6039	0.078593588				
		3	0.5943	1.658738366				
		5	0.5846	3.271975181				
		7	0.5763	4.641158221				
		9	0.5665	6.258531541				
	ETANOL	DAUN	kontrol	0.6043		$y = 2.4017x + 33.173$	0.999	7.00
			1	0.3899	35.47880041			
3			0.3595	40.51706308				
5			0.3315	45.14994829				
7			0.3021	50.01447777				
9			0.2735	54.74663909				
			kontrol	0.4125		$y = 1.5962x + 0.1345$	0.999	31,24
			1	0.4049	1.842200945			
			3	0.3929	4.763059023			
			5	0.3792	8.071748879			
			7	0.3654	11.42891771			
			9	0.3528	14.47097322			

Tabel 4.2 menunjukkan hasil uji aktivitas antioksidan *Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst tertinggi adalah bagian daun dengan pelarut etanol 96% dengan nilai IC₅₀ sebesar 7 ug/mL. Menurut Padmapriya (2012) pelarut etanol bekerja lebih efektif dalam menghambat radikal bebas pada tumbuhan yang mengandung

senyawa polifenol. Selain itu, kemampuan ekstrak etanol lebih efisien dalam mendegradasi dinding sel tumbuhan dan memudahkan senyawa tersebut keluar dari sel karena terdapat perbedaan konsentrasi diluar dan di dalam sel sehingga pelarut dapat memasuki dinding sel dan membran sel menuju rongga sel yang didalamnya mengandung senyawa metabolit senyawa sekunder. Sedangkan aktivitas antioksidan terendah ditunjukkan oleh ekstrak biji dengan pelarut metanol 96% yaitu sebesar 66,03 ug/mL. Aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Menurut Mazza (2000) faktor yang menyebabkan rendahnya aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol adalah senyawa flavonoid dalam ekstrak tidak murni sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Selain itu rendahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak dapat dilihat dari kandungan fitokimia masing-masing organ (Marliana, 2005). Berdasarkan uji fitokimia (Lampiran 5) menunjukkan bahwa ekstrak daun tanaman gayam mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, saponin dan tanin. Sedangkan ekstrak biji mengandung flavonoid dan alkaloid.

Semakin tinggi nilai IC_{50} maka aktivitas senyawa antioksidan semakin rendah begitu juga sebaliknya, semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang diperoleh. Dengan memasukkan nilai hasil perhitungan kedalam persamaan linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis (X) dan nilai persentase inhibisi sebagai ordinat (Y), nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% menggunakan persamaan $Y = aX + b$ (Lampiran 6). Data nilai

IC₅₀ pada masing- masing ekstrak dan asam askorbat ditunjukkan oleh gambar 4.2.



Gambar 4.2 Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak daun dan biji *Ifagiferus* (Park) Forst dan asam askorbat (pembanding).

Gambar 4.2 menunjukkan nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak dengan pelarut yang berbeda lebih besar dari pada nilai IC₅₀ yang dimiliki asam askorbat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun dan biji pada masing-masing pelarut memiliki kemampuan yang lebih rendah dibandingkan dengan asam askorbat dalam menghambat aktivitas dari radikal bebas namun hasil IC₅₀ masing-masing ekstrak menunjukkan konsentrasi tersebut tergolong kategori sangat kuat dalam menghambat radikal bebas . Untuk mengetahui kategori masing-masing aktivitas antioksidan dalam larutan uji dapat ditunjukkan oleh hasil persen aktivitas antioksidan (IC₅₀) pada masing-masing sampel (Mabruroh, 2011).

Tabel 4.3 Nilai IC₅₀ Ekstrak *I. fagiferus* (Park.) Forst dan Asam Askorbat

Pelarut	Sampel Ekstrak	IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Metanol	Daun	8,79	sangat kuat
	Biji	66,03	kuat
Etanol	Daun	7,00	sangat kuat
	Biji	31,24	Sangat Kuat
Asam Askorbat		0.58	sangat kuat

Berdasarkan tabel 4.3 dapat diketahui ekstrak etanol daun *I.fagiferus* (Park.) Forst memiliki nilai IC₅₀ lebih rendah dari pada nilai IC₅₀ ekstrak biji etanol 96% maupun daun dan biji pada pelarut metanol 96%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun etanol 96% memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat aktivitas radikal bebas DPPH. Berdasarkan nilai IC₅₀ masing-masing jika nilai IC₅₀ yang dihasilkan kurang dari 50 ppm maka aktivitas antioksidannya termasuk kategori sangat kuat, 50-100 ppm termasuk kategori kuat, 100-150 ppm kategori sedang, 150-200 ppm kategori lemah dan apabila nilai IC₅₀ diatas 200 ppm aktivitas aktioksidannya termasuk kategori sangat lemah (Molyneux, 2014).

Berdasarkan kriteria tersebut diketahui bahwa ekstrak daun pelarut etanol 96% memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dibandingkan ekstrak lainnya. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh jumlah senyawa flavonoid yang ada pada ekstrak daun gayam, semakin banyak senyawa flavonoid maka aktivitas antioksidan akan semakin meningkat. Aktivitas antioksidan disebabkan karena adanya senyawa-senyawa flavonoid yang terdegradasi keluar sel. Menurut

Nakiboglu (2007) kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH sangat dipengaruhi oleh gugus OH yang terdapat dalam senyawa flavonoid. Perbedaan aktivitas antioksidan fenolik ditentukan oleh struktur kimia, jumlah dan posisi gugus hidroksi dan metil pada cincin. Semakin banyak gugus hidroksil yang tersubstitusi dalam molekul maka kemampuan penangkapan radikal bebasnya semakin kuat karena semakin banyak atom hidrogen yang dapat didonorkan (Yu Lin et al., 2009).

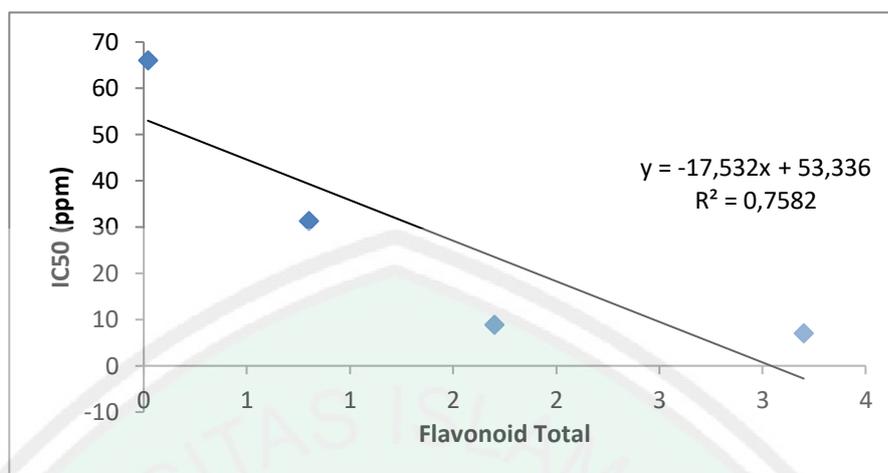
Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mengandung sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar (Kemit, 2010). Etanol merupakan pelarut polar yang banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam (Santana, 2009). Menurut Sudarmadji (2003) etanol lebih banyak dalam mengekstrak senyawa aktif dibandingkan jenis pelarut organik lainnya karena kemampuannya dalam memecah dinding dan membran sel sehingga senyawa metabolit sekunder tersebut tertarik keluar sel. Sedangkan metanol memiliki kemampuan dalam menarik senyawa aktif yang bersifat semi polar, polar maupun non polar. Sehingga bukan hanya senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan yang bersifat polar saja yang dapat ikut terdifusi keluar sel melainkan juga senyawa aktif yang bersifat semi polar dan non polar, hal ini dapat dilihat berdasarkan hasil perolehan perhitungan rendemen masing-masing ekstrak dengan pelarut yang berbeda (Lampiran 5), yaitu ekstrak metanol daun sebanyak 14% dan ekstrak biji 9,8% sedangkan pelarut etanol daun menunjukkan 12% dan ekstrak biji sebanyak 11,8%. Hal ini menunjukkan bahwa metanol mampu mengekstrak senyawa berdasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut, sehingga bukan

hanya metabolit sekunder polar saja melainkan semua komponen dapat terekstraksi dengan baik.

Perbedaan aktivitas antioksidan ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Berdasarkan penelitian Widyawati dkk (2010) perbedaan kemampuan mentransfer atom hidrogen ke radikal bebas, pH, jumlah gugus hidroksil yang akan mempengaruhi kemampuannya untuk mendonorkan atom hidrogen menjadi semakin besar. Sesuai dengan penelitian Andayani (2008) dalam penentuan aktivitas antioksidan dan kadar total likopen pada buah tomat menunjukkan bahwa senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan umumnya memiliki gugus hidroksil untuk melengkapi elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas.

4.3 Hubungan Antara Total Flavonoid Dengan Aktivitas Antioksidan

Jumlah gugus hidroksil pada struktur flavonoid akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, semakin banyak gugus hidroksil yang dimiliki menyebabkan semakin besar aktivitasnya dalam menghambat radikal bebas (Akowuah, 2005). Untuk mengetahui hubungan antara kadar flavonoid total masing-masing sampel terhadap nilai IC_{50} maka digunakan persamaan linier untuk mengetahui korelasi antara keduanya. Berdasarkan hasil korelasi, diperoleh persamaan regresi linier seperti pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Korelasi linier antara aktivitas antioksidan IC₅₀ (y) dan kadar flavonoid total (x) ekstrak daun dan biji gayam.

Berdasarkan hasil dari regresi linier diketahui korelasi antara IC₅₀ (y) dan kadar flavonoid total (x) ekstrak daun dan biji gayam yang mempunyai koefisien korelasi $R^2 = 0,7582$ ($y = -17,532 + 53,336$). Hal ini menunjukkan bahwa 75,82% aktivitas antioksidan dari ekstrak daun dan biji gayam karena kontribusi kehadiran senyawa flavonoid. Juga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun dan biji gayam tidak hanya karena adanya senyawa flavonoid, aktivitas antioksidan juga dapat berasal dari adanya metabolit sekunder lain juga yang bersifat antioksidan seperti tannin, sehingga 24,18% dipengaruhi kehadiran senyawa selain flavonoid (Javanmardi, 2003). Beberapa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun dan biji melalui uji fitokimia diketahui mengandung senyawa diantaranya ekstrak daun tanaman gayam mengandung alkaloid, steroid, saponin dan tanin. Sedangkan ekstrak biji mengandung alkaloid. Berdasarkan penelitian juga disebutkan bahwa kandungan senyawa saponin dan

tanin pada daun kenari juga berkontribusi pada aktivitas antioksidan yang dihasilkan karena senyawa polifenol, tanin dan saponin mempunyai aktivitas antioksidan (Heim, 2002 : Robinson, 1995).

4.4 Dialog Hasil Penelitian Berdasarkan Perspektif Islam

Penelitian uji fitokimia, aktivitas antioksidan dan total flavonoid ekstrak daun dan biji gayam (*I. fagiferus* (Park.) Forst.) ini dengan menggunakan pelarut yang berbeda. Tumbuhan gayam merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari Indonesia, tumbuhan ini juga mampu tumbuh di tanah-tanah yang mengandung sedikit unsur hara sekalipun, senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman gayam digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai bahan pengobatan herbal meskipun belum banyak dikenali masyarakat luas. Allah SWT menciptakan alam dengan manfaatnya masing-masing, dalam QS Thaha (53-54) Allah menjelaskan penciptaan bermacam-macam tumbuhan-tumbuhan.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا
مِنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ. كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَامَكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِأُولِي النُّهَىٰ.

Artinya : (53) “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam” (54) “Makanlah dan gembalakanlah binatang-binatang kalian. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berakal” (Qs. Thaha:53-54).

Lafadz “ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ ” diakhir ayat menunjukkan arti berbagai jenis tumbuhan yang diciptakan itu berbeda-beda, baik dari segi warna dan rasa begitu pula manfaatnya. Selain itu pada tafsir Hidayatul Qur’an oleh Abu Yahya

menyatakan bahwa jenis-jenis tumbuhan tersebut dianugerahkan kepada manusia dan hewan ternak mereka untuk dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya, dan sungguh pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda dari kekuasaan Allah bagi kalian orang-orang yang berakal. Dalam hal ini Allah memberikan pembelajaran bahwa Dia menitipkan rizki yang begitu luas yang mereka jadikan sebagai tempat tinggal dan rizki yang berlimpah salah satunya segala jenis tumbuhan yang bermacam-macam.

Allah telah berfirman dalam Qs. Al-Hijr (19) :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ

Artinya : “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran”(Qs. Al-Hijr: 19).

Berdasarkan ayat tersebut di atas menjelaskan bahwa segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah telah ditetapkan sesuai dengan kadar atau ukurannya masing-masing. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan terhadap tumbuhan dengan sampel organ yang berbeda menggunakan pelarut yang berbeda hasilnya tentu akan berbeda pula. Hal ini terjadi karena setiap organ tumbuhan yang digunakan sebagai bahan ekstrak akan memberikan respon yang berbeda pula sehingga dalam penelitian ini dapat diperoleh konsentrasi kadar dan pelarut yang tepat antioksidan dalam menghambat radikal bebas oleh senyawa metabolit sekunder pada masing-masing organ daun dan biji yang terdapat dalam gayam (*I.fagiferus* (Park.) Forst.) sehingga nantinya dapat dimanfaatkan dengan baik oleh generasi selanjutnya antara lain sebagai bahan pangan dan obat tradisional.

Peran manusia sebagai khalifah dimuka bumi yaitu dalam hal menjaga dan melestarikan serta mampu mengelola segala hal yang telah dikaruniakan Allah kepadanya di bumi tanpa harus berbuat kerusakan padanya, diantaranya adalah penciptaan tumbuhan. Tumbuhan digunakan sebagai bahan makanan juga seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, tumbuhan digunakan sebagai bahan obat-obatan tradisional karena diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder pada masing-masing organnya sehingga dapat memiliki manfaat besar dibidang kesehatan. Dalam penelitian ini digunakan metabolit sekunder dari tumbuhan gayam untuk dimanfaatkan sebagai antioksidan sehingga dapat diketahui pada kadar berapa antioksidan tersebut dapat meredam senyawa radikal sebagai pemicu kerusakan oksidatif yang menyebabkan kerusakan pada sel tubuh makhluk hidup .



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap uji fitokimia, aktivitas antioksidan dan total flavonoid ekstrak daun dan biji gayam (*I.fagiferus* (Park.) Forst.) menggunakan pelarut yang berbeda disimpulkan bahwa :

1. Kandungan total flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol 96% daun gayam (*I.fagiferus* (Park) Forst) yaitu 3,2894 mg QE/g, ekstrak daun metanol (1,75 mg QE/g), ekstrak biji etanol (0,80 mg QE/g) dan ekstrak biji metanol (0,02 mg QE/g).
2. Aktivitas antioksidan tertinggi pada daun gayam (*I.fagiferus* (Park.) Forst.) menggunakan pelarut etanol 96% menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 7 ug/mL.

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh aktivitas antioksidan dan total flavonoidnya ke hewan coba atau mikroorganisme.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh perbedaan lingkungan terhadap kualitas maupun kuantitas metabolit sekunder tumbuhan gayam.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., 1986, *Kimia Organik Bahan Alam*, Universitas Terbuka, Jakarta
- Aditya, 2011, Penelusuran Senyawa Antioksidan pada Kulit Batang Gayam, *Skripsi*, Jurusan Kimia, F MIPA, Universitas Udayana.
- Anastasia Y, Widiastuti R. 2015. Detection of Chloramphenicol Residue in Bovine Meat Using Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *JITV* .19 (1).
- Andayani, R.Y, Lisawati, dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1).
- Andriani, Y, Habsah Mohamad, M.N.I, Kassim., N.D. Rosnan., D.F. Syamsumir., J.Saidin. 2017. Evaluation on *Hydnophytum formicarum* Tuber from Setiu Wetland (Malaysia) and Muara Rupit (Indonesia) for Antibacterial and Antioxidant activities and anti-cancer Potency against MCF-7 and HeLa Cell. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*.7(9).
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.
- Balai Penelitian Teknologi Agroforestry. 2012. *Pertelaahan Jenis Pohon Koleksi Arborentum*. Jawa Barat : Kementerian Kehutanan.
- BPOM, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. BPOM,
- Burkill, I. H. 1966. *A Dictionary of Economic Product of The Malay Peninsula*. Kuala Lumpur, Malaysia: Government of Malaysia and Singapore by The Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Bustan MD, Febriyani R, Papkhan H. 2008. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Ukuran Partikel Terhadap *Oleoresin* Jahe Yang Diperoleh Dalam Berbagai Jumlah Pelarut. *Journal Teknik Kimia*. 15.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation Of Total Flavonoid Content In Propolis By Two Complementary Colorimetric Methode. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(2).
- Chang, L., dan Sun, T. (2002). Free Radical Scavenging Properties Of Wheat Extracts. : *Journal of Cultural And Chemistry*. (50).
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Dehpour, A.A., Mohammad A.E., Nabavi S.F., and Nabavi, S.M. 2009. Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Ferula assafoetida* and Its Essential Oil Composition. *Grasas Aceities*.60 (4).

- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hal 5-11.
- Dewatisari Whika Febria, Leni Rumiyantri dan Ismi Rakhmawati. 2017. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17(3).
- Dewi Ni Wayan Oktarini A.C. et al., 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum Betaceum*, Syn) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 2.
- Diem Do Quy, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong L.T, Lien Huong H, Felycia E.S, Suryadi Ismadji dan Yi Hsu Ju. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. 22.
- Falanruw. 2015. *Trees Of Yap: A Field Guide*. Washington: United States Department Of Ariculture.
- Farooqi, M.I.H. 2005. Terapi Herbal Cara Islam : *Manfaat Tumbuhan Menurut Al-qur'an dan Sunnah Nabi*. Diterjemahkan oleh Ahmad Y. Sumantho. Jakarta : UI Press.
- Fauzi Ahmad. 2013. *Pembuatan Simplisia*. ITB : Bandung.
- Fauziyah, A. 2011. *Analisis Potensi Dan Gizi Pemanfaatan Bekatul dalam Pembuatan Cookies*. Bogor : Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor.
- Fitriana, W.D., Sri, F., Taslim, E. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH Dan ABTS Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding Simposium Nasional Dan Pembelajaran Sains.
- Gagola, C. 2004. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi kayu (*Manihot esculenta*) Daging putih dan daging kuning yang diambil dari kota melonguane kabupaten kepulauan talaud. *Jurnal ilmiah farmasi pharmacon*. 3 (2).
- Gandjar, I.G., dan Abdul, R. (2007). *Kimia Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Halimah, 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) terhadap Larva Udang. *Skripsi*. Malang
- Hanani E, Mun'im, A dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari kepulauan seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 11 (3).

- Hanani, E., Abdul Mun'im, Ryany Sekarin, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callispongia* sp Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2005 : 2(3).
- Handayani Selpida, Komar Ruslan Wirasutisna dan M. Insanu. 2017. Penapisan Fitokimia dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar. *JF FIK UINAM*. 5 (3).
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan ke dua*. Bandung: ITB.
- Hyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II*. Jakarta: Bidan Litbang Kehutanan.
- Indah, Mappiratu dan Musafira, 2017. Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus Niger* Isolat Kapang Kopro dengan Menggunakan Media Kelapa Parut. *Jurnal Kovalen*. 3 (3).
- Kahkonen MP, Hopia AI, Furella HC. 1999. Antioxidant Activity Of Extract Containing Phenolic Compound. *J Agr Food Chem*. 47.
- Karadag, A., B, Ozcelik., S, Saner. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*. 2 (1).
- Kelly, S. G. 2011. Quersetin. *Alternative Medicine Review*. 16(2).
- Koley Tanmay Kumar, Zareen Khan. Dasharath Oulkar, B.K. Singh, Arti Maurya, B. Singh, Kaushik Banerjee. 2017. High resolution LC-MS characterization of phenolic compounds and the evaluation of antioxidant properties of a tropical purple radish genotype. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Krisna I Gusti, AP, Sri Rahayu Santi, dan Ni Luh Rustini. 2014. Senyawa Steroid Pada Daun Gayam (*Inocarpus Fagiferus* Fosb) Dan Aktivasnya Sebagai Antioksidan Terhadap Difenilpikril Hidrazil (Dpph). *Jurnal Kimia*. 4(8)
- Kristanti, A.N.S Aminah, M.Tanjung, dan B.Kurniadi. 2008. *Buku ajar Fitokimia*: Surabaya
- Latadaya Felmer S dan Mylene M Uy. 2016. Screening of the Antioxidant Properties of the leaf extract of philippine medicinal plants *Ficus nota* (Blanco) Merr, *Metroxylon Sagu* Rottb, *Mussaenda philippica* A, Rich. *Inocarpus fagiferus* ang *Cinnamomum mercadoi* Vidal. Bulletin of Environment, *Pharmacology and Life Sciences*. 5 (3).
- Latifa, I. 2015. Profil Kadar MDA (*Malodialdehyde*) pada Tikus Yang diberikan Ekstrak Herba THYMI (*Thymus vulgaris* L.). *Naskah Publikasi*. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

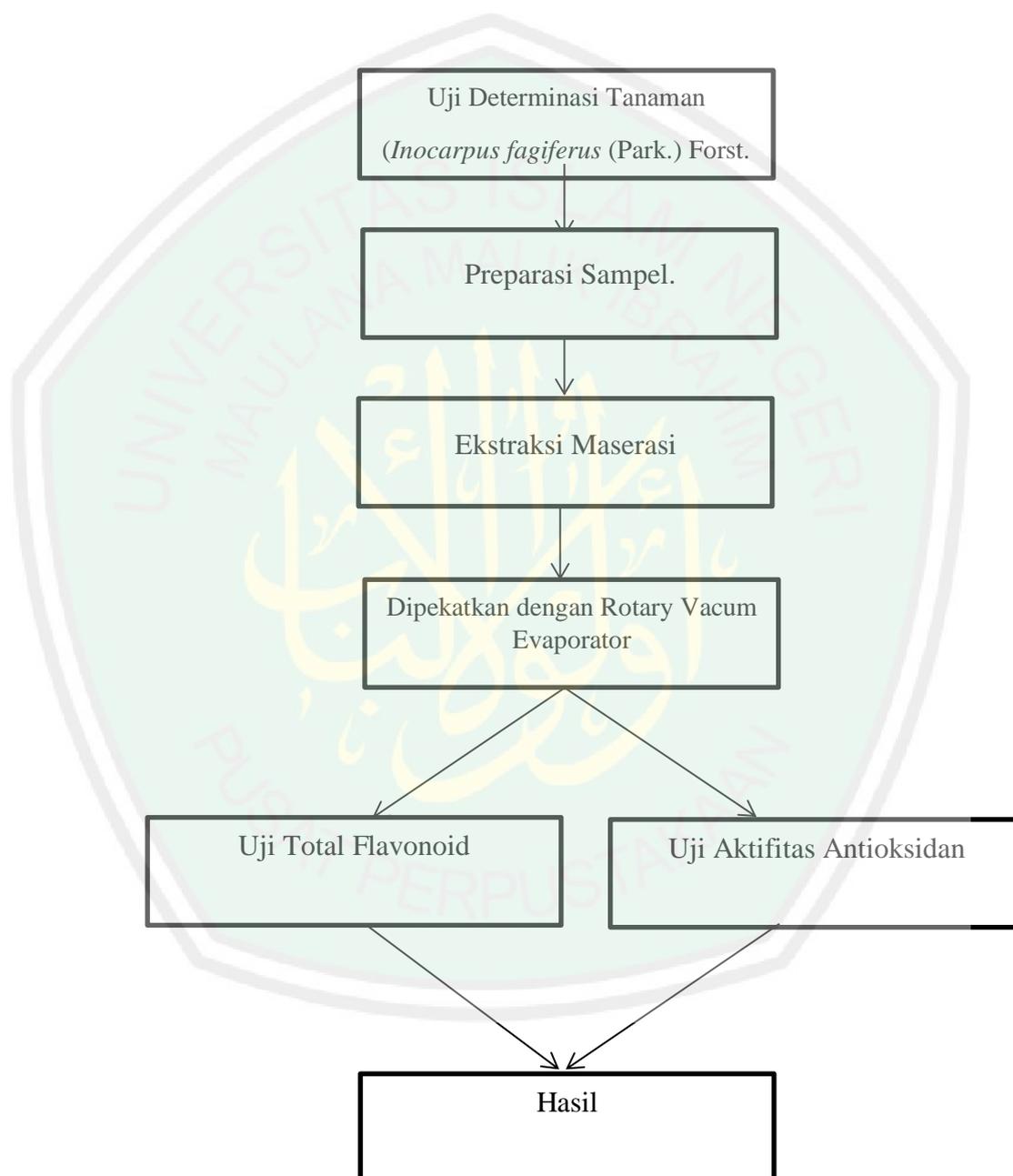
- Lestari Dwi Marga, Nurul Mahmudati, Sukarsono, Nurwidodo dan Husamah. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenol Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb). *Bisfera*. 35 (1).
- Mardawati, E., C.S. Achyar dan H. Marta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Markham, K.R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, terjemahan K. Radmawinata*. Bandung : Penerbit ITB
- Marliana, D.W., Venty, S., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1).
- Michael, V. and Cristhop Seger. 2008. A Decade of HPLC-MS in the Routine Clinical Laboratory-Goal for Futher Development. *Clinical biochemistry*.
- Molyneux. 2004. The Use Of The Stable Free Radical *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J.Sci.Technol*. 26 (2).
- Mu'nisa, A. 2012. Analisis Kadar Likopen dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Tomat asal Sulawesi Selatan. *Jurnal Bionature*. 13(1)
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Padmapriya K, Abishek D, Dutta D. 2012. Nicrowave Assisted Extraction Of Mangiferin From Curcuma Amada. *Biotech*. 2(1).
- Penney L, Smith A, Coates B, Wijiewickreme A. 2005. Determination of chloramphenicol, florfenicol, florfenicol amine, and thiamphenicol in shrimp tissue by Gas Chromatography with electron capture detection. *JAOAC Int*. 83.
- Poedjiadi, anna. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
- Prakash, D. Upadhyay, G., Singh, B.N., Dhakarey, R., Kumar, S., dan Singh, K.K. 2007. Free Radical Scavenging Activites of *Himalayan rhododendrons*. *Current Science*. 92 (4).
- Puji L. Lantah, Lita A.D.Y. Montolalu, Albert R.Reo. 2017. Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Kappaphycus alvarezii*. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5 (3).
- Putra, D.A.D. 2012. Identifikasi komponen kimia minyak atsiri daun bunga tahi ayam (*Tagates erecta* L.) secara uji aktivitas antibakteri dan antioksidan. Sumatera utara

- Roberta RE. 1999. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Journal of Biology and Medicine*. Vol 26.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof.Dr. Kosasih Padnawinata. Bandung: ITB
- Rohman, T. 2005. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan*. Bandung: ITB
- Salamah, N. dan E. Widyasari. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1).
- Sangi, M. Runtuwenw, MRJ dan Makang. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten inahasa Utara. *Chemistry Progress*. (1)
- Santi, S. R., 2000, Isolasi dan Karakterasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Gayam (*Inocarpus fagiferus Fosb*), *Tesis, Pasca Sarjana, Prodi Ilmu Kimia, Universitas Padjadjaran, Bandung*
- Sayuti. 2015. *Antioksidan, Alami Dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Serlahwaty Diana dan Atika Nourmela Sevian. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry Dan Tomat Dengan Metode ABTS. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol 1.
- Setiawan Finna, Oeke Yunita dan Ade Kurniawan. 2003. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*. 2 (2).
- Setyowati. 2014. Ekstraksi Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2).
- Setyowati. 2014. Mengungkap Keberadaan Dan Potensi Gayam (*Inocarpus fagiferus*) Sebagai Sumber Pangan Alternative di Sukabumi, Jawa Barat. *Proseminas Masy Biodiv Indon*. 1 (1).
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta : Lentera Hati.
- Siadi, K, 2012, Ekstrak bungkil biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai biopestisida yang efektif dengan penambahan larutan NaCl, *Jurnal MIPA*. 35(1)
- Silalahi J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: kanisus.
- Sotheesswan, S, Sharif, M.R. 1994. Lipids from the Seeds Of Seven Fijian Plant Species. *Food Chemistry*. Vol 49.
- Subiyandono, 2011. Uji aktivitas Antioksidan Ekstrak *Camellia sinensis Hibiscus sabdariffa*, dan *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boarl. Palembang.

- Sudirman, Sabri. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomoea aquatica* Forsk.) Institut pertanian Bogor.
- Sukadana I Made dan Sri Rahayu Santi. 2017. The Effect Antioxidant Compounds in Ethanol Extract *Inocarpus Fagiferus* Fosb Seed to Expression TNF-a And IL-6 Liver Cells In Hypercholesterolemia Wistar Rat. *J.Pharm. Sciences and Research*. 9 (5).
- Sukadana I Made, Sri Rahayu dan I G K Arijana. 2017. The Intake of *Inocarpus fagiferus* Fosb. Stem bark N-buthanol extract caused the increase expression of Sod-2 and Sod-3 Aortic Endhotelial cells of Hypercholesterolemia Rats. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 10(4).
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia UPN Jawa Timur*. 2(1).
- Widyawati, P. S. R. I. 2016. Determination Of Antioxidant Capacity In *Pluchea Indica* Less Leaves Extract And Its Fractions. 8(9).
- Wijayakusuma, M Hembing. 2000. *Ensiklopedia Milineum, Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia: Jilid 1*. Jakarta: PRESTASI.
- Winarsih. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisus
- Yu H, Tao Y, Chen D, Wang Y, Liu Z, Pan Y, Huang L, Peng D, Dai M, Yuan Z. 2010. Development of high performance liquid chromatography method and *liquid chromatography-tandem mass spectrometry* method with pressurized liquid extraction for simultaneous quantification and confirmation of cyromazine, melamine and its metabolites in foods of animal origin. *Anal Chim Acta*.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Determinasi Tanaman

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
No: 0328 /IPH.06/HM/III/2019

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Ilul Inayah
NIM : 15620045
Instansi : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Tanggal material diterima : 25 Februari 2019

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Fabales
Family : Fabaceae
Genus : Inocarpus
Species : *Inocarpus fagiferus* (Parkinson) Forst.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 620
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XV
3. K.Heyne.1987. Tumbuhan Berguna Indonesia I, Hal. 1011

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

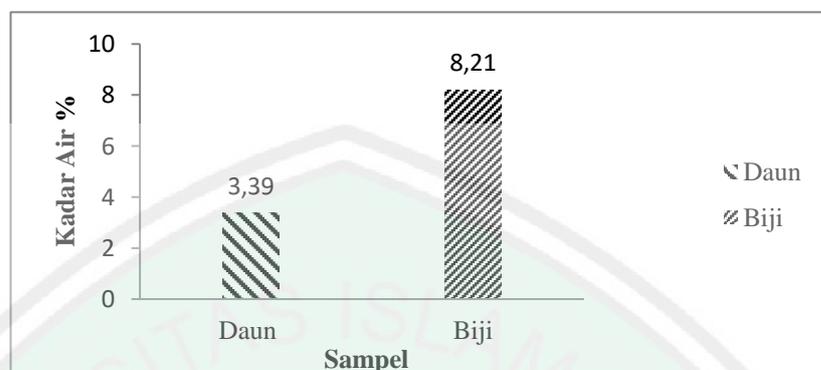
Purwodadi, 12 Maret 2019
An. Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan


Rony Irawanto, S.Si.,M.T.



Lampiran 3. Analisis Kadar Air, Hasil Rendemen dan Uji Fitokimia

1. Hasil uji kadar air sampel daun dan biji *I. fagiferus* (Park.) Forst masing-masing pelarut pada gambar 1.



Gambar 1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Daun dan Biji *I.fagiferus* (Park.) Forst.

2. Tabel Hasil perhitungan berat ekstrak dan rendemen ekstrak daun dan biji *I. fagiferus* (Park) Forst masing-masing pelarut

Pelarut	Sampel	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Metanol	Daun	7	14
	Biji	4.9	9.8
Etanol	Daun	5.9	12
	Biji	6	11.8

3. Tabel Hasil penelitian skrining fitokimia ekstrak daun dan biji *I. fagiferus* (Park.) Forst menggunakan pelarut etanol 96%.

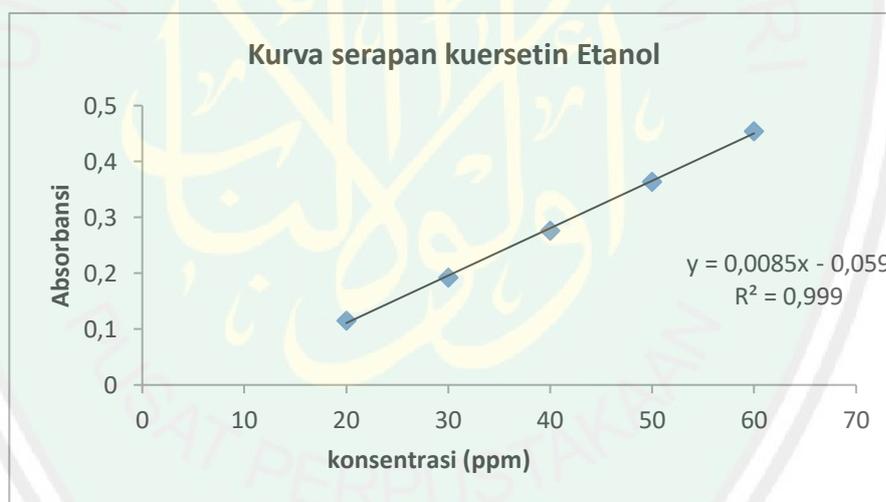
Senyawa Uji	Standar	Ekstrak Etanol 96%	
		Daun	Biji
Alkaloid	Endapan jingga	+	+
Flavonoid	larutan merah/jingga	+	+
Steroid	Larutan biru/hijau	+	-
Saponin	terbentuk busa yang stabil	+	-
Tanin	larutan hijau kehitaman atau biru	+	-

Lampiran 4. Pengukuran absorbansi larutan standar dan kurva baku kuersetin

4.1 Pengukuran absorbansi larutan standar dan kurva baku kuersetin etanol 96%

1. Hasil Pengukuran Absorbansi Kuersetin

Konsentrasi	20	30	40	50	60
Absorbansi	0.115	0.197	0.274	0.369	0.481
	0.112	0.190	0.291	0.376	0.450
	0.117	0.190	0.291	0.373	0.470
Rata-rata	0.1147	0.1923	0.2853	0.3727	0.467



Gambar 2. Kurva Serapan Absorbansi Kuersetin

2. Hasil Pengukuran Serapan Senyawa Flavonoid Sampel Daun Etanol

a. Perhitungan Konsentrasi pada kuersetin

$$y = ax + b$$

$$y = 0,0085x - 0,059$$

Dimana: y = Absorbansi (A)

x = Konsentrasi (C)

$$y = 0,0085x - 0,059$$

$$0,5535 = 0,0085x - 0,059$$

$$0,0085x = 0,5535 + 0,059$$

$$x = \frac{0,5592}{0,0085}$$

$$x = 65,788 \text{ mg/L}$$

b. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

$$\text{Berat Ekstrak (M)} = 0,02 \text{ g} / 20 \text{ mg}$$

$$\text{Konsentrasi Kuersetin (C)} = 65,788 \text{ mg/L}$$

$$\text{Volume Stok (V)} = 0,01 \text{ L} / 1000 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar total (\%)} &= \frac{CxV}{M} \\ &= \frac{65,788 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,01 \text{ L}}{0,02 \text{ g}} \\ &= \frac{0,65788 \text{ mg}}{0,02 \text{ g}} \\ &= 32,894 \text{ mg QE/g} \\ &= 0,032894 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 3,2894\% \end{aligned}$$

3. Hasil Pengukuran Serapan Senyawa Flavonoid Sampel Biji Etanol

a. Perhitungan Konsentrasi kuersetin

$$y = ax + b$$

$$y = 0,0085x - 0,059$$

Dimana: y = Absorbansi (A)

x = Konsentrasi (C)

$$y = 0,0085x - 0,059$$

$$0,115 y = 0,0085x - 0,059$$

$$0,0085x = 0,115 - 0,059$$

$$x = \frac{0,147}{0,0085}$$

$$x = 20,47 \text{ mg/L}$$

b. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Berat Ekstrak (M) = 0,02 g / 20 mg

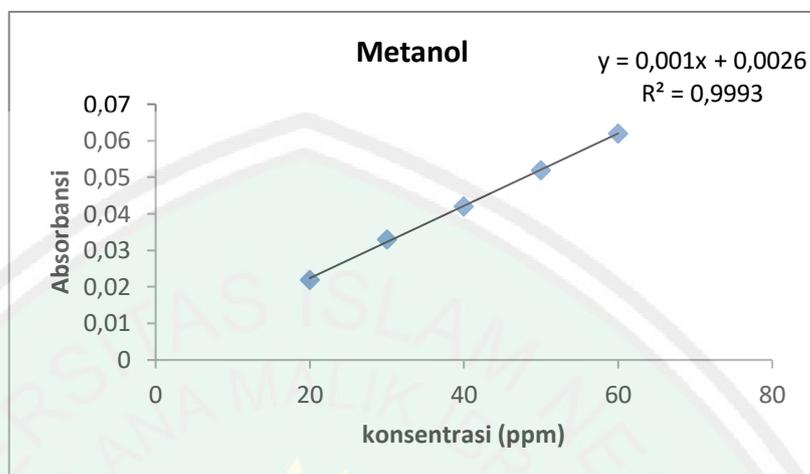
Konsentrasi Kuersetin (C) = 20,47 mg/L

Volume Stok (V) = 0,01 L / 1000 mL

$$\begin{aligned} \text{Kadar total (\%)} &= \frac{CxV}{M} \\ &= \frac{20,47 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,01 \text{ L}}{0,02 \text{ g}} \\ &= \frac{0,2047 \text{ mg}}{0,02 \text{ g}} \\ &= 10,235 \text{ mg QE/g} \\ &= 0,010235 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 1,0235 \% \end{aligned}$$

4.2 Pengukuran absorbansi larutan standar dan kurva baku kuersetin metanol 96%

1. Hasil pengukuran kurva kuersetin



Gambar 3. Kurva Serapan Absorbansi Kuersetin

2. Hasil Pengukuran Serapan Senyawa Flavonoid Sampel Daun Metanol

a. Perhitungan Konsentrasi pada kuersetin

$$y = ax + b$$

$$y = 0,001x + 0,0026$$

Dimana: y = Absorbansi (A)

x = Konsentrasi (C)

$$y = 0,001x + 0,0026$$

$$0,0376 = 0,001x + 0,0026$$

$$0,001x = 0,0376 - 0,0026$$

$$x = \frac{0,0350}{0,001}$$

$$x = 35,07 \text{ mg/L}$$

b. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

$$\text{Berat Ekstrak (M)} = 0,02 \text{ g} / 20 \text{ mg}$$

$$\text{Konsentrasi Kuersetin (C)} = 35,07 \text{ mg/L}$$

$$\text{Volume Stok (V)} = 0,01 \text{ L} / 1000 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar total (\%)} &= \frac{CxV}{M} \\ &= \frac{35,07 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,01 \text{ L}}{0,02 \text{ g}} \\ &= \frac{0,3507 \text{ mg}}{0,02 \text{ g}} \\ &= 17,537 \text{ mg QE/g} \\ &= 0,17537 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 1,7537\% \end{aligned}$$

3. Hasil Pengukuran Serapan Senyawa Flavonoid Sampel Biji Metanol

a. Perhitungan Konsentrasi kuersetin

$$y = ax + b$$

$$y = 0,001x + 0,0026$$

Dimana: y = Absorbansi (A)

x = Konsentrasi (C)

$$y = 0,001x + 0,0026$$

$$0,0187 y = 0,001x + 0,0026$$

$$0,001x = 0,187 + 0,0026$$

$$x = \frac{0,0161}{0,001}$$

$$x = 16,1 \text{ mg/L}$$

b. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Berat Ekstrak (M) = 0,02 g / 20 mg

Konsentrasi Kuersetin (C) = 16,1 mg/L Volume Stok (V) = 0,01 L / 1000 mL

$$\begin{aligned} \text{Kadar total (\%)} &= \frac{C \times V}{M} \\ &= \frac{16,1 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,01 \text{ L}}{0,02 \text{ g}} \\ &= \frac{0,161 \text{ mg}}{0,02 \text{ g}} \\ &= 8,05 \text{ mg QE/g} \\ &= 0,00805 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 0,805\% \end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan

5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 50 ml pelarut = 394,33 g/mol

Mol DPPH = 10 mL x 0,2 mM

$$\begin{aligned}
 &= 10 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ mM}}{1000} \\
 &= 0,002 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\
 &= 0,78866 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

5.2 Pembuatan Larutan Uji

$$\text{Larutan Stok Uji} = \frac{\text{Berat Ekstrak (mg)}}{\text{pelarut (mL)}} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{10.000 \text{ ul/ml}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

- Pembuatan larutan 1 ppm

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 1000 \times V1 &= 1 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\
 &= 0,06 \text{ ml} \\
 &= 6 \text{ ul}
 \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 3 ppm

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 1000 \times V1 &= 3 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\
 &= 0,018 \text{ ml} \\
 &= 18 \text{ ul}
 \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 5 ppm

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 1000 \times V1 &= 5 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\
 &= 0,03 \text{ ml} \\
 &= 30 \text{ ul}
 \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 7 ppm

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 1000 \times V1 &= 7 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\
 &= 0,042 \text{ ml} \\
 &= 42 \text{ ul}
 \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 9 ppm

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 1000 \times V1 &= 9 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\
 &= 0,054 \text{ ml} \\
 &= 54 \text{ ul}
 \end{aligned}$$

5.3 Pembuatan Larutan Standar (Asam Askorbat)

$$\text{Stok Asam askorbat} = \frac{\text{Asam Askorbat (mg)}}{\text{pelarut (mL)}} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{10.000 \text{ ul/ml}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

- Pembuatan larutan 0,5 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$\begin{aligned} 1000 \times V1 &= 0,5 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\ &= 0,003 \text{ ml} \\ &= 3 \text{ ul} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 1 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$\begin{aligned} 1000 \times V1 &= 1 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\ &= 0,006 \text{ ml} \\ &= 6 \text{ ul} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 1,5 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$\begin{aligned} 1000 \times V1 &= 1,5 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\ &= 0,009 \text{ ml} \\ &= 9 \text{ ul} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 2 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$\begin{aligned} 1000 \times V1 &= 2 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\ &= 0,012 \text{ ml} \\ &= 12 \text{ ul} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 2,5 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

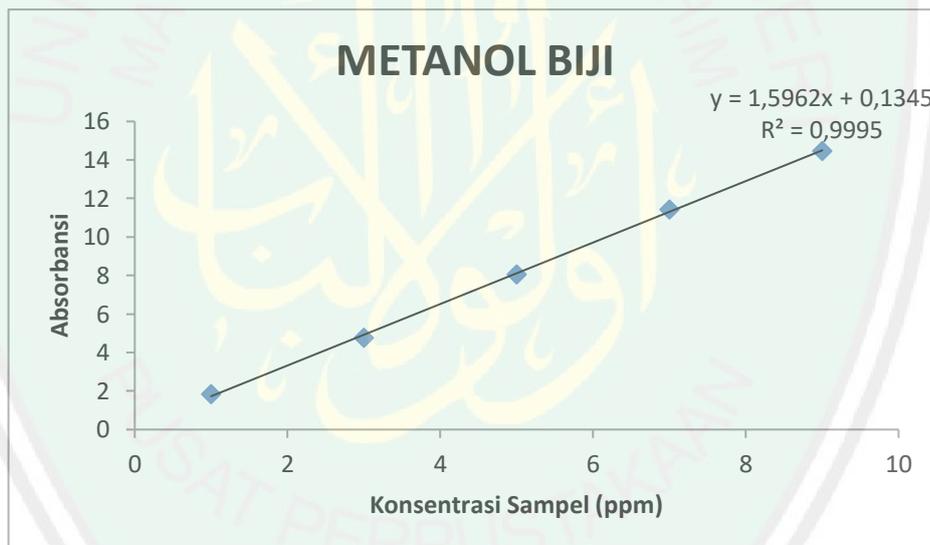
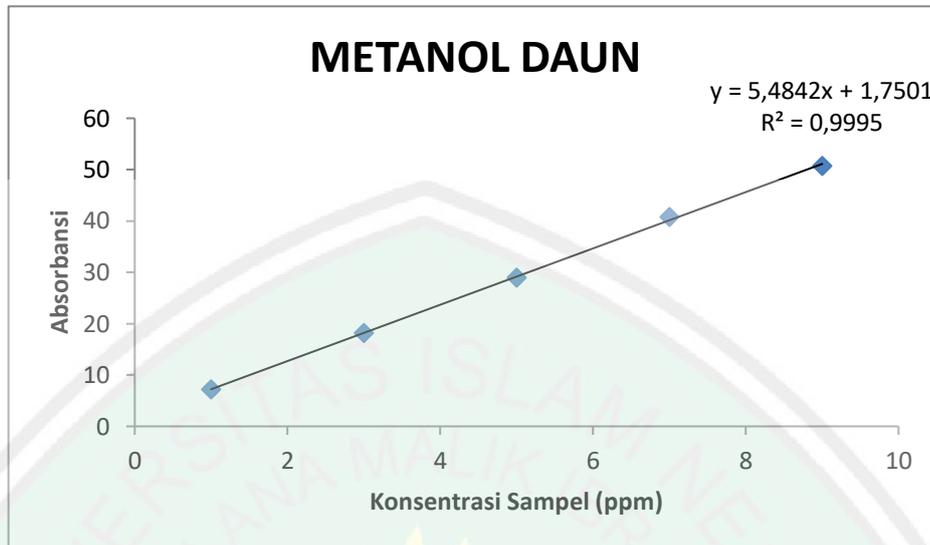
$$\begin{aligned} 1000 \times V1 &= 2,5 \text{ ppm} \times 6 \text{ ml} \\ &= 0,015 \text{ ml} \\ &= 15 \text{ ul} \end{aligned}$$

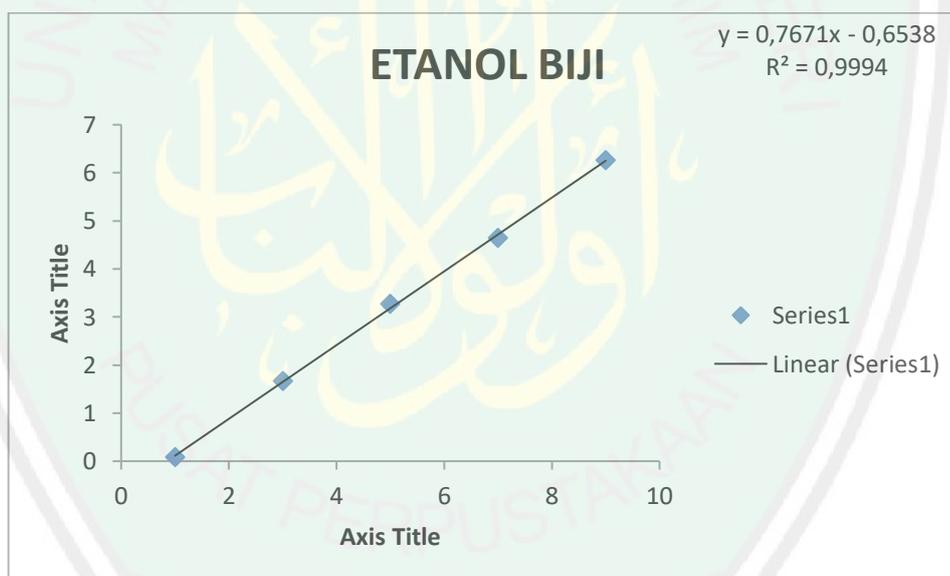
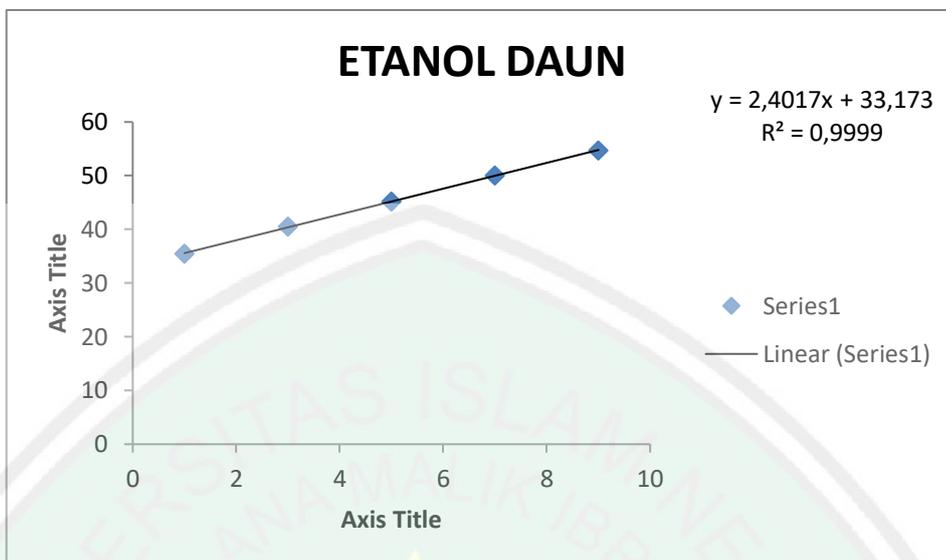
Lampiran 6. Data Absorbansi Antioksidan Ekstrak Sampel Dan Asam Askorbat

1. Hasil Absorbansi Antioksidan Ekstrak Sampel dan Asam Askorbat

PELARUT	JENIS EKSTRAK	konsentrasi sampel (ppm)	Absorbansi	Hambatan (%)	Persamaan Regresi	R	IC50 (ppm)	
METANOL	DAUN	kontrol	0.4125		$y = 5.4842x + 1.7501$	0.999	8,79	
		1	0.3829	7.187007635				
		3	0.3375	18.17961459				
		5	0.2929	28.98436553				
		7	0.2443	40.77081566				
		9	0.2032	50.73324446				
	BIJI	kontrol	0.6043		$y = 0.7671x - 0.6538$	0.999	66.03	
		1	0.6039	0.078593588				
		3	0.5943	1.658738366				
		5	0.5846	3.271975181				
		7	0.5763	4.641158221				
		9	0.5665	6.258531541				
	ETANOL	DAUN	kontrol	0.6043		$y = 2.4017x + 33.173$	0.999	7.00
			1	0.3899	35.47880041			
3			0.3595	40.51706308				
5			0.3315	45.14994829				
7			0.3021	50.01447777				
9			0.2735	54.74663909				
		kontrol	0.4125		$y = 1.5962x + 0.1345$	0.999	31,24	
		1	0.4049	1.842200945				
		3	0.3929	4.763059023				
		5	0.3792	8.071748879				
		7	0.3654	11.42891771				
		9	0.3528	14.47097322				
ASAM ASKORBAT	Kontrol	0.4125		$y = 7.8433x + 54.596$	0.999	0.58		
	0.5	0.1566	62.02884499					
	1	0.1207	70.73082051					
	1.5	0.0890	78.42685735					
	2	0.0591	85.66840383					
	2.5	0.0256	93.77651194					

2. Kurva Serapan Absorbansi Masing- Masing Ekstrak dan Pelarut



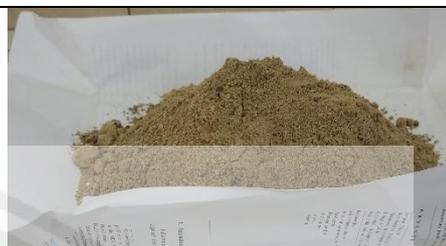


Lampiran 7. Dokumentasi Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

1. Preparasi Sampel



Gambar 1. Serbuk Daun Gayam



Gambar 2. Serbuk Biji Gayam

2. Ekstraksi Sampel



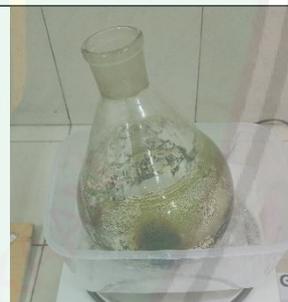
Gambar 3. Maserasi



Gambar 4. Penyaringan



Gambar 5. Rotav sampel



Gambar 6. Hasil Biji Metanol



Gambar 7. Hasil Rotav Biji Etanol



Gambar 8. Hasil Rotav Daun Metanol



3. Uji Fitokimia



4. Uji Antioksidan dengan Metode DPPH



Gambar 15. Daun Metanol



Gambar 16. Biji Metanol



Gambar 17. Daun Metanol



Gambar 18. Daun Etanol

5. Uji Total Flavonoid



Gambar 19. Uji Total Flavo Daun Metanol



Gambar 20. Uji Total Flavo Daun Etanol



Gambar 21. Uji Total Biji Metanol

Gambar 22. Uji Total Biji Etanol



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ilul Inayah
 NIM : 15620045
 Program Studi : Biologi
 Semester : Ganjil T.A 2019
 Pembimbing : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 Judul Skripsi : Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji Gayam
 (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-01-2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	16-01-2019	Revisi judul skripsi	2.
3.	11-02-2019	Konsultasi BAB I	3.
4.	18-02-2019	Konsultasi BAB I dan II	4.
5.	18-03-2019	Revisi BAB I, II dan III	5.
6.	14-05-2019	ACC Proposal	6.
7.	05-11-2019	Konsultasi BAB IV	7.
8.	19-11-2019	Revisi BAB IV	8.
9.	20-11-2019	Konsultasi BAB IV, V dan Daftar Pustaka	9.
10.	28-11-2019	Konsultasi analisis data dan lampiran	10.
11.	04-12-2019	ACC Skripsi	11.

Malang, 18 Desember 2019

Pembimbing Skripsi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002



Konrad, M.Si., D.Sc
 NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Ilul Inayah
NIM : 15620045
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Biji Gayam
(*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	07-04-2019	Konsultasi BAB I, II	1.
2.	12-04-2019	ACC BAB I dan II dan III	2.
3.	29-11-2019	Konsultasi BAB IV	3.
4.	02-12-2019	ACC Skripsi	

Malang, 18 Desember 2019

Pembimbing Agama Skripsi,

Ketua Jurusan,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409

Romaidi, M.Si., D.Sc
NIPT. 19810201 200901 1 019

